



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

ÚSTAV KONSTRUOVÁNÍ

INSTITUTE OF MACHINE AND INDUSTRIAL DESIGN

**STUDIUM VLIVU SLOŽENÍ SYNOVIÁLNÍ KAPALINY NA
TŘENÍ KLOUBNÍ CHRUPAVKY**

THE EFFECT OF SYNOVIAL FLUID COMPOSITION ON FRICTION OF JOINT CARTILAGE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Denis Furmann

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. David Nečas, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání diplomové práce

Ústav: Ústav konstruování
Student: **Bc. Denis Furmann**
Studijní program: Strojní inženýrství
Studijní obor: Konstrukční inženýrství
Vedoucí práce: **Ing. David Nečas, Ph.D.**
Akademický rok: 2018/19

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma diplomové práce:

Studium vlivu složení synoviální kapaliny na tření kloubní chrupavky

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Jedním z úkolů chrupavky je zajistit správnou funkci kloubu při udržení velmi nízkého součinitele tření, který bývá obvykle řádově nižší v porovnání se strojními prvky. Zejména v posledních letech však představuje velmi zásadní lékařský problém osteoartróza, která se projevuje degradací chrupavky. Konečným důsledkem je potom nutnost náhrady postiženého kloubu. Porozumění třecích vlastností chrupavky včetně posouzení vlivu složení modelové synoviální kapaliny na součinitel tření může velmi výrazně přispět k zefektivnění léčby a tedy zvýšení komfortu života pacientů.

Typ práce: výzkumná

Výstup práce: publikační výsledek (J, D)

Projekt: specifický vysokoškolský výzkum

Cíle diplomové práce:

Hlavním cílem práce je objasnit vliv složení modelové synoviální kapaliny na třecí vlastnosti kloubní chrupavky. Dále bude studován vliv kinematických a zátěžných podmínek. Experimenty budou realizovány v konfiguraci pin-on-plate.

Dílčí cíle diplomové práce:

- provést kritickou rešerši aktuálních vědeckých publikací a navrhnout podmínky experimentů,
- navrhnout metodiku extrakce a uchování vzorků chrupavky při minimálním ovlivnění jejich přirozených vlastností,
- provést reciproční testy a experimentálně popsat vliv složení synoviální kapaliny na součinitel tření,
- posoudit vliv kinematických podmínek a kontaktního tlaku v kontaktu chrupavky na součinitel tření,
- připravit odbornou publikaci shrnující hlavní výsledky práce.

Požadované výstupy: průvodní zpráva.

Rozsah práce: cca 72 000 znaků (40 – 50 stran textu bez obrázků).

Struktura práce a šablona průvodní zprávy jsou závazné:

http://dokumenty.uk.fme.vutbr.cz/BP_DP/Zasady_VSKP_2019.pdf

Seznam doporučené literatury:

JAHN, Sabrina a Jacob KLEIN. Lubrication of articular cartilage. *Physics Today*. 2018, 71(4), 48-54.

SCHULZ, Ronny Maik a Augustinus BADER. Cartilage tissue engineering and bioreactor systems for the cultivation and stimulation of chondrocytes. *European Biophysics Journal*. 2007, 36(4-5), 539-568.

MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Kazuhiro NAKASHIMA, Nobuo SAKAI, Tetsuo YAMAGUCHI, Yoshinori SAWAE a Atsushi SUZUKI. Biphasic and boundary lubrication mechanisms in artificial hydrogel cartilage: A review. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. 2015, 229(12), 864-878.

PARK, Jae-Yong, Cong-Truyen DUONG, Ashish Ranjan SHARMA, et al. Effects of Hyaluronic Acid and γ -Globulin Concentrations on the Frictional Response of Human Osteoarthritic Articular Cartilage. *PLoS ONE*. 2014, 9(11), 1-19.

SCHMIDT, Tannin, Nicholas GASTELUM, Quynhhoa NGUYEN, Barbara SCHUMACHER a Robert SAH. Boundary lubrication of articular cartilage: Role of synovial fluid constituents. *Arthritis & Rheumatism*. 2007, 56(3), 882-891.

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2018/19

V Brně, dne

L. S.

prof. Ing. Martin Hartl, Ph.D.
ředitel ústavu

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.
děkan fakulty

ABSTRAKT

Táto diplomová práca sa zaoberá analýzou vplyvu zloženia modelovej synoviálnej kvapaliny na trecie vlastnosti kĺbnej chrupky. V práci je pozorovaný vplyv zložiek, koncentrácie, rýchlosti a zaťaženia. Boli realizované experimenty v konfigurácii pin-on-plate na komerčnom tribometri. Na experimenty bolo zvolených niekoľko typov mazív obsahujúcich niektoré zo zložiek synoviálnej kvapaliny. Mazivá boli pripravené vo dvoch koncentráciách. V koncentrácii zdravých jedincov a v koncentrácii aká je typická pre pacientov trpiacich na osteoartrózu. Všetky merania boli realizované pri rýchlostiach 5 a 10 mm/s a zaťažení 5 a 10 N. V práci je ukázané, že pri použití mazív obsahujúce iba proteíny nie je pozorovaný žiadny rozdiel v hodnotách súčiniteľa trenia, a nie je taktiež pozorovaný vplyv koncentrácie. Pridanie HA má synergický účinok s γ -globulínom, avšak v prípade mazív obsahujúce albumín je účinok opačný. Po pridaní fosfolipidov nie je v mazivách obsahujúcich γ -globulín pozorovaný žiadny výrazný vplyv. Pri zmene zaťaženia nie je pozorovaný žiadny významný vplyv zloženia a koncentrácií na trenie.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Biotribológia, kĺbna chrupka, koeficient trenia, tribologické vlastnosti, synoviálna kvapalina

ABSTRACT

This thesis deals with the study of the effect of the constituents of the model synovial fluid on the frictional properties of articular cartilage. The influence of constituents, concentration, speed and load is observed. Experiments were performed on a commercial tribometer at configuration pin-on-plate. Several types of lubricants containing synovial fluid constituents have been selected for the experiments. Lubricants were prepared at two concentrations, the concentration of healthy individuals and at a concentration typical of for osteoarthritic patients. Speeds 5 and 10 mm/s and 5 and 10 N loads were used for all experiments. It is shown that when using only lubricant containing proteins, no difference in the coefficient of friction is observed and the effect of concentration is also not observed. The addition of hyaluronic acid has a synergistic effect with γ -globulin, however in the case of lubricants containing albumin, the effect is opposite. After the addition of phospholipids, no significant effect on friction is observed in γ -globulin containing lubricants. No significant effect of the composition and concentration of the lubricants is observed with the load change.

KEYWORDS

Biotribology, articular cartilage, coefficient of friction, tribological properties, synovial fluid

BIBLIOGRAFICKÁ CITÁCIA

FURMANN, Denis. *Studium vlivu složení synoviální kapaliny na tření kloubní chrupavky*. Brno, 2019. 72 s. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav konstruování. Vedoucí diplomové práce Ing. David Nečas Ph.D.

POĎAKOVANIE

Rád by som sa na tomto mieste poďakoval Ing. Davidovi Nečasovi Ph.D. za rady a cenné pripomienky ohľadom obsahu diplomovej práce a veľkú dávku trpezlivosti. Ďalej na neposlednom mieste patrí vďaka výberovým študentom na Ústave konštruovania, za pomoc pri zvládnutí toho, čo by bolo pre nevýberových študentov nezvládnuteľné.

ČESTNÉ PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som diplomovú prácu vypracoval samostatne, s uvedením všetkých literárnych zdrojov pod odborným vedením vedúceho práce Ing. Davida Nečasa Ph.D.

.....
Podpis

OBSAH

1	ÚVOD	17
2	PREHLAD SÚČASNÉHO STAVU POZNANIA	18
2.1	Kĺbna chrupka a synoviálna kvapalina	18
2.2	Tribologické vlastnosti kĺbnej chrupky	20
2.2.1	Dvojfázový režim mazania	20
2.2.2	Medzný režim mazania	27
3	ANALÝZA PROBLÉMU A CIELE PRÁCE	40
3.1	Analýza, interpretácia a zhodnotenie rešerše	40
3.2	Podstata a ciele diplomovej práce	41
4	MATERIÁL A METÓDY	43
4.1	Experimentálne zariadenie	43
4.2	Použité vzorky	44
4.3	Použité mazivá	45
4.4	Postup merania a použité podmienky	46
5	VÝSLEDKY	48
5.1	Vplyv zloženia synoviálnej kvapaliny	48
5.1.1	Mazivá s čistými proteínmi	48
5.1.2	Mazivá s pridaním kyseliny hyalurónovej	49
5.1.3	Mazivá s pridaním fosfolipidov.	50
5.1.4	Mazivá s pridaním kyseliny hyalurónovej aj fosfolipidov	50
5.2	Vplyv koncentrácie	51
5.3	Vplyv rýchlosti	53
5.4	Vplyv zaťaženia	55
6	DISKUSIA	58
6.1	Vplyv zloženia a koncentrácie	58
6.2	Vplyv rýchlosti a zaťaženia	59
6.3	Opakovateľnosť a príprava vzoriek	60

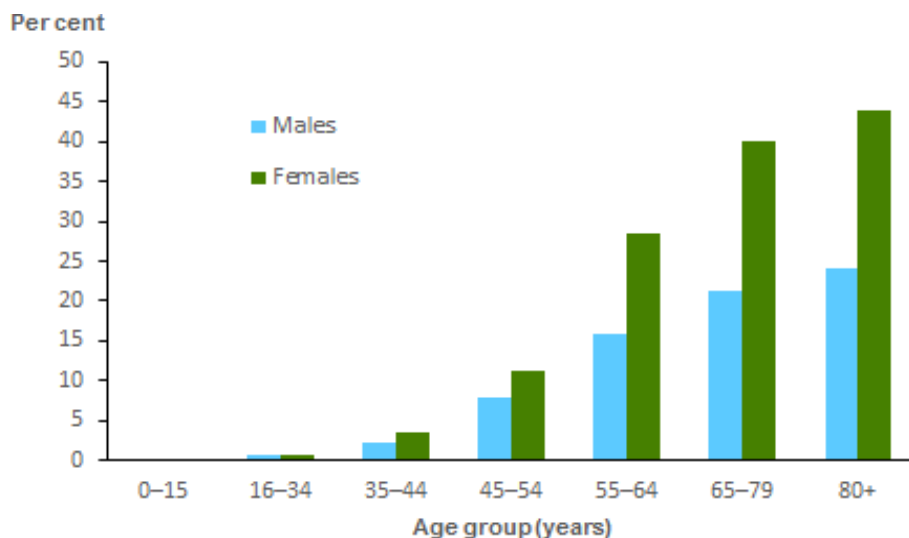
7	ZÁVER	63
8	ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV	64
9	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK	67
10	ZOZNAM OBRÁZKOV A GRAFOV	68
11	ZOZNAM PRÍLOH	71

1 ÚVOD

Hlavnou funkciou kĺbnej chrupky je zabezpečenie prenosu zaťaženia za pohybu pri malom koeficiente trenia. Neobsahuje nervové zakončenia ani cievy, a tým pádom je výživa sprostredkovaná difúziou zo synoviálnej kvapaliny, ktorá zároveň účinkuje ako mazivo [1]. Synoviálna kvapalina je filtrát krvnej plazmy nenewtonského charakteru bez faktorov zrážanlivosti (fibrinogén), alebo hemoglobínu. Dôležité zložky synoviálnej kvapaliny sú hyaluronát s vysokou molekulovou hmotnosťou, ktorý je zodpovedný za jej viskozitu, fosfolipidy a proteíny (albumín, γ -globulín) [2].

Stále častejšie je však u pacientov diagnostikovaná takzvaná osteoartritída (obr. 1-1). Postihuje hlavne starších ľudí [3] a s vekom jej početnosť narastá. Vyznačuje sa veľkou bolesťou kĺbov, spôsobenou postupnou degradáciou chrupkového tkaniva. Regenerácia poškodeného tkaniva je veľmi pomalá, a tak liečenie je veľmi komplikované. V krajnom prípade musí dôjsť k výmene kĺbu za umelú náhradu kĺbu. Životnosť náhrady je však okolo 10 – 20 rokov. U mladých pacientov je tak po čase nevyhnutná výmena náhrady [4]. Dobré porozumenie mechaník opotrebenia, mazania a trenia v kĺbnej chrupke, nám môže dať podstatné informácie o zrode a vývine tohto ochorenia a tak zlepšiť životné podmienky pacientov.

Cieľ práce je komplexne popísať vplyv jednotlivých zložiek synoviálnej kvapaliny a ich kombinácií na trenie kĺbnej chrupky. Experimentálne dáta sú získané pre dve rôzne zaťaženia a rýchlosti na univerzálnom tribometri Brucker v konfigurácii pin-on-plate.



obr. 1-1 Počet pacientov v závislosti na veku a pohlaví [3].

2 PREHLAD SÚČASNÉHO STAVU POZNANIA

Diplomová práca sa zaoberá meraním koeficientu trenia kĺbnej chrupky pri rôznych zloženiach maziva. S toho dôvodu budú v rešerši analyzované niekoľko vedeckých publikácií, pre získanie relevantných informácií, predovšetkým však o podmienkach zaťažovania a použitých materiálov. Pre správne pochopenie mechanizmov mazania je však nutná znalosť zloženia ako synoviálnej kvapaliny, tak aj kĺbnej chrupky. Preto je na začiatku v krátkosti popísaná kĺbna chrupka a synoviálna kvapalina.

2.1 Kĺbna chrupka a synoviálna kvapalina

Kĺbna chrupka je špeciálne spojivové tkanivo. Jej základnou úlohou je zabezpečenie prenosu záťaže za pohybu, pri malom súčiniteli trenia. Má hrúbku zhruba 2 – 4 mm [1]. Neobsahuje žiadne nervové zakončenia ani cievy. Jej vyživovanie je tak zabezpečené pomocou difúzie zo synoviálnej kvapaliny. Je zložená z tekutej a pevnej fázy. Tekutá zložka sa skladá z vody a v nej rozpustených iónov. Utvára majoritu hmotnosti chrupky [4]. Pevná časť sa skladá z buniek, ktoré sa nazývajú chondrocyty a medzibunkovej hmoty.

Chondrocyty sú vysoko špecializované bunky. Ich funkcia je produkovanie zložiek medzibunkovej hmoty. Utvárajú len okolo 2 % celkového objemu kĺbnej chrupky. Ich tvar a veľkosť sa mení v závislosti na polohe [1]. Chondrocyty sa vyznačujú nízkou schopnosťou replikácie. To spôsobuje veľmi obmedzenú schopnosť regenerácie porušeného tkaniva.

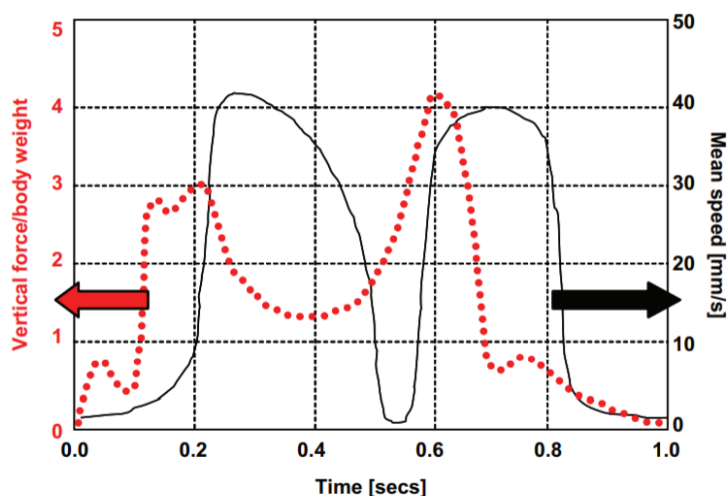
Voda je najrozšírenejšia časť v chrupke. Utvára približne 80 % z celkovej hmotnosti. Približne 30 % je vo vnútrovláknovom priestore naviazaných kovalentnou väzbou s kolagénom [1]. Malý počet je súčasťou chondrocytov. Ostatné množstvo je voľne rozložené v pórovitom priestore medzibunkovej hmoty. Sú v nej rozpustené vápnikové, chlórové, sodíkové, a draslíkové ióny. Veľké množstvo vody je medzi vláknami kolagénu vo forme gélovej suspenzie. Väčšina sa môže voľne pohybovať. To nastáva napr. stlačením pevnej zložky alebo pri pôsobení osmotického tlaku. Rezistencia prostredia na pohyb vody je veľmi veľká. Teda permeabilita tkaniva je veľmi malá [2].

Kolagén je najfrekvencovanejšia štruktúrna makromolekula v medzibunkovej hmote. Tvorí až 60 % suchej hmotnosti chrupky. Najčastejšie sa vyskytuje kolagén typu II. Tvorí 90 až 95 % celkového kolagénu v chrupke [1]. Minoritné typy kolagénov napomáhajú sfornovaniu a stabilizácii siete kolagénu typu II. Kolagén je formovaný vo vláknach, ktoré sú spojené s proteoglykanovými agregátmi. Kolagénové vlákno tvorí ľavotočivú trojzávitnicu tvorenú peptidovými reťazcami. Kolagénovým vláknam sú pripisované všetky pevnostné a elastické vlastnosti [3].

Proteoglykany sú veľké komplexné makromolekuly. V medzibunkovej hmote reprezentujú druhú najpočetnejšiu skupinu makromolekúl. Sú zložené z proteínového jadra a jedného, alebo viacerých kovalentne zaväzbených sacharidových reťazcov. Majú hydrofilný charakter. Je na nich naviazaný veľký objem vody a prispievajú tak k hydratácii tkaniva [2]. Ďalšími zložkami sú HA(kyselina hyalurónová), keratansulfát, chondroitinsulfát. Tie patria do skupiny polysacharidov. Sú tvorené opakujúcimi sa disacharidmi. V nemalej miere sú prítomné aj glykosaminoglykany, tie v štruktúre obsahujú sulfátovú skupinu. Sú tak záporne nabité. Najviac je zastúpený agrekan. Agrekan má schopnosť dobre sa viazať na reťazce HA. Spolu vytvárajú proteoglykánový agregát [3].

Synoviálna kvapalina je filtrát krvnej plazmy. Je neneutonského charakteru. Medzi jej najdôležitejšie zložky patrí HA, fosfolipidy a viacero proteínov. HA je hlavná zložka zodpovedná za jej viskozitu. Väčšina štúdií je zameraných určením zložky zodpovednej za jej vynikajúce tribologické vlastnosti. Porovnanie závislosti súčiniteľa trenia na čase je vidieť na obrázku 3-1, kde boli porovnané synoviálna kvapalina a Ringerov roztok [4].

Výsledné zaťaženie bedrového kĺbu a jeho priebeh sa zvyčajne vzťahuje k násobku, alebo percentu telesnej hmotnosti [5]. Pri chôdzi (frekvencia pohybu približne 1 Hz) po rovine zaťaženie môže presiahnuť štvornásobok telesnej hmotnosti (obr. 2-1). Prepočítané hodnoty kontaktného tlaku sa pohybujú v rozmedzí 1 – 6 MPa. Rýchlosti sa pohybujú v intervale 2 – 42 mm/s.

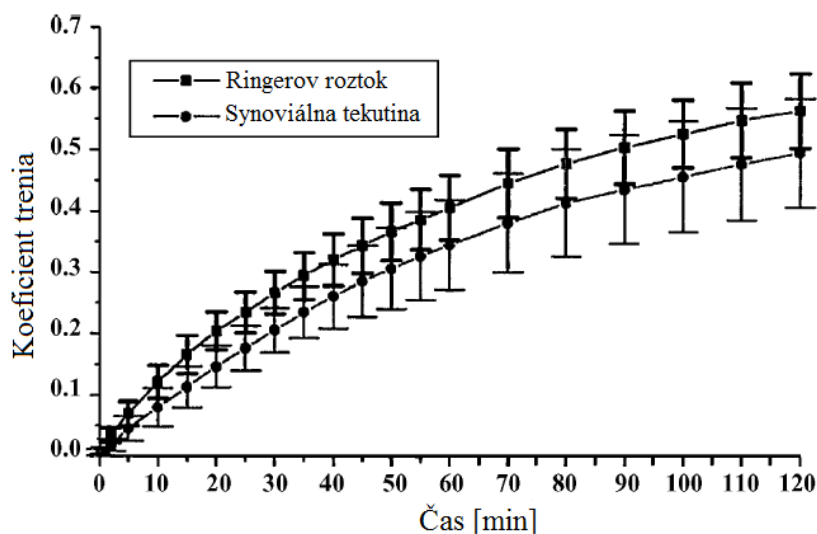


obr. 2-1 Kinematické podmienky bedrového kĺbu pri chôdzi na rovine [5].

2.2 Tribologické vlastnosti kĺbnej chrupky

2.2.1 Dvojfázový režim mazania

Kĺbna chrupka je poréznej / špongiovej štruktúry a skladá z dvoch fáz. Pevnú fázu tvoria kolagénne vlákna, prepletené sieťou proteoglykanou, na ktoré sú kovalentne naviazané ióny, fosfolipidy a proteíny. Kvapalnú tvorí voda vo forme gélu a rozpustené ióny [4]. V dôsledku väčšej koncentrácie iónov v chrupke ako v okolí, je do chrupky osmoticky vtlačovaná voda. To spôsobí zvýšenie tlaku v chrupke. Pre poréznu štruktúru je pri zaťažení tok kvapaliny sprevádzaný veľkými odporovými silami, čo má za následok ďalší tlakový vzostup. Následne natlakovaná kvapalina je schopná preniesť väčšinu zaťaženia, a vysvetlia sa tým veľmi nízke hodnoty trenia. Experimentálne to potvrdili Forster a Fischer [6] meraním koeficientu trenia in vitro na tribometri pri kontakte chrupka – kov, kde bolo preukázane, že postupne ako je vytlačovaná kvapalina preč z kontaktu, je zaťaženie prenášané pevnou zložkou. To časom spôsobí zvýšenie trenia, ako je vidieť na obr. 2-2. Zároveň tak bol zavedený pojem dvojfázové mazanie.



obr. 2-2 Koeficient trenia v závislosti na čase pri použití rozdielnych mazív [6].

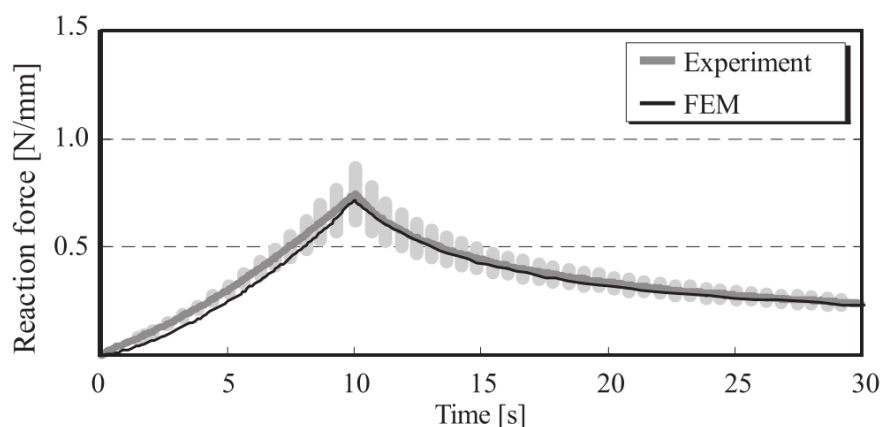
[7] **SAKAI, Nobuo, Yuichiro HAGIHARA, Tsukasa FURUSAWA, Natsuko HOSODA, Yoshinori SAWAE a Teruo MURAKAMI.** Analysis of biphasic lubrication of articular cartilage loaded by cylindrical indenter. *Tribology International*. 2012, **46**(1), 225–236.

V tejto štúdii bol skúmaný účinok konštitutívnych vlastností chrupkového tkaniva ako dvojfázového materiálu hlavne na tom, ako zmena materiálových vlastností ovplyvňuje veľkosť zaťaženia prenášaného kvapalnou zložkou kĺbnej chrupky. Experimentálne

namerané dáta boli porovnávané s numerickým výpočtom pomocou metódy konečných prvkov. Na experimenty bolo navrhnuté vlastné zariadenie simulujúce pohyb a kompresnú odozvu kĺbnej chrupky. Materiálové vlastnosti boli odhadnuté s valcového indentačného testu. Na experimenty bola použitá chrupka z bravčového kolena. Pri uskladnení vzorky neboli zmrazené, aby sa nezmenili vlastnosti. Boli použité cylindrické vzorky s priemerom 3 mm a dĺžkou 10 mm, ktoré boli vyrezané pomocou skalpela. Pred meraním sa nechali 30 min nasiaknuť v PBS (fosfátový pufer). Aby sa zabránil prechod do medzného stavu mazania vzorky boli počas testu celý čas ponorené v PBS.

Výsledky

Časovo závislá reakčná sila bola získaná experimentálne pomocou indentácie valca, ktorý mal takmer rovnakú geometriu ako simulácia (obr. 2-3). Pri následnej simulácii kĺzania boli prvky s pružinovými výstuhami a prvky s hĺbkovo závislými elastickými vlastnosťami výrazne účinné pri natlakovaní intersticiálnej kvapaliny. Účinok zmeny permeability nepreukázal značný vplyv na udržateľnosť natlakovania pri pohybovom teste, ale narástol pri statickej indentácii.



obr. 2-3 Závislosť reakčnej sily na čase [7].

[8] **BONNEVIE, ED, V BARO, L WANG a DL BURRIS.** In-situ studies of cartilage microtribology: roles of speed and contact area. *Tribology letters*. 2011, 41(1), 83-95.

V štúdií bolo skúmané ako závisí posuvová rýchlosť a veľkosť kontaktnej plochy na trení. Pri meraní bola použitá hovädzia chrupka, ktorá bola uskladnená v chladničke pri 1 °C. Z nej boli vyvrtané cylindrické vzorky s rozmermi $\Phi 10$ mm x 10 mm, ktoré boli nato uskladnené v PBS.

Na merania bol použitý vlastný navrhnutý tribometer s možným zaťažením 10 – 100 mN. Vzorka bola prichytená na pohyblivú podložku, ktorá vykonávala recipročný pohyb. Veľkosť kontaktnej plochy bola vypočítaná pomocou merania deformácie s využitím vzorca (1). Koeficient trenia bol následne vypočítaný s merania trecej a normálovej sily. V dôsledku

zakrivenia povrchu chrupky bol nameraný koeficient trenia prepočítaný pomocou vzorca (2.)

$$a = \sqrt[2]{R \cdot \delta_s} \quad (1)$$

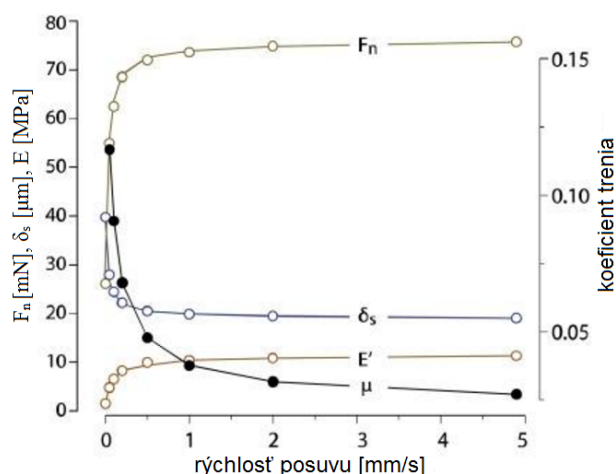
Kde: a je polomer kontaktnej plochy, R je polomer sondy a δ_s je hĺbka penetrácie.

$$\mu = \frac{\mu^* \cos(\alpha) + \sin(\alpha)}{\cos(\alpha) - \mu^* \sin(\alpha)} \quad (2)$$

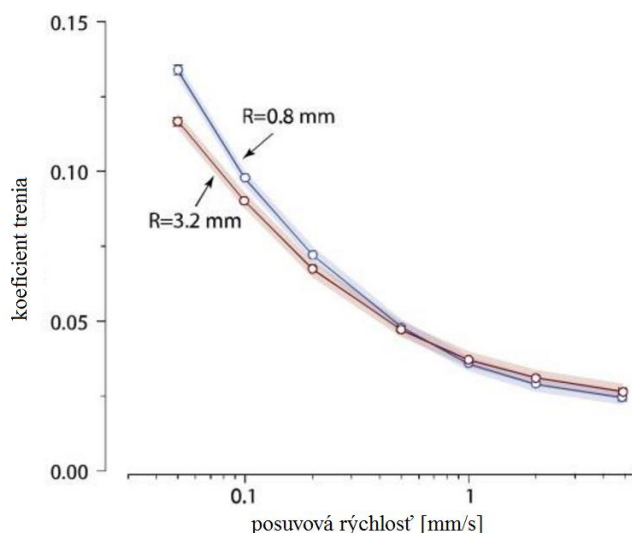
Kde: μ je skutočný koeficient trenia, μ^* je nameraný koeficient trenia a α je uhol medzi normálou plochy chrupky a vertikálnou osou.

Výsledky

Bolo preukázané, že sledované parametre vykazujú veľkú závislosť na rýchlosti (obr. 2-4). Normálová sila spočiatku prudko narastá a následne sa ustáli a udržiava pomerne rovnakú veľkosť. Pokles hĺbky penetrácie kopíruje nárast normálovej sily. Pokles koeficientu trenia je však menej strmý, ako nárast normálovej sily. Pri meraní s rozdielnou veľkosťou sondy bol vplyv na namerané hodnoty zanedbateľný (obr. 2-5).



obr. 2-4 Závislosť koeficientu trenia, normálovej sily, hĺbky penetrácie a efektívneho modulu pružnosti na rýchlosti posuvu [8].



obr. 2-5 Závislosť koeficientu trenia na posuvovej rýchlosti pri rôznych polomeroch sond [8].

[9] **CALIGARIS, Matteo a Gerard A ATESHIAN**. Effects of Sustained Interstitial Fluid Pressurization Under Migrating Contact Area, and Boundary Lubrication by Synovial Fluid, on Cartilage Friction. Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society. 2008, 16(10), 1220-1227.

V štúdií boli overované dve hypotézy. Či je možné trvalo udržať natlakovanie chrupky za fyziologických podmienok zaťaženia, a tak udržať nízke hodnoty trenia, a efektivitu synoviálnej kvapaliny ako maziva. Na experimenty bola použitá mladá hovädzia chrupka, uskladnená v PBS s inhibítormi proteázy pri 4 °C. Merania boli realizované na tribometri s recipročným pohybom pri zaťažení 6,3 N.

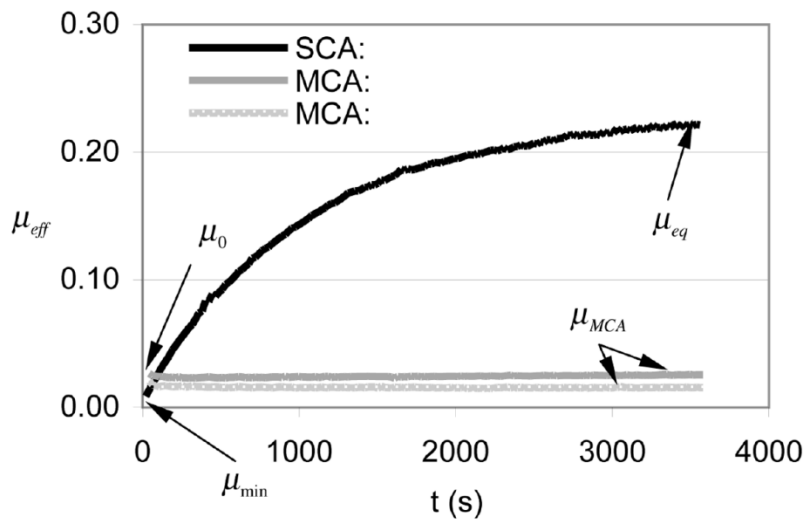
Výsledky

Bolo preukázané, že hodnota koeficientu trenia pri migrujúcom mieste kontaktu (MCA) udržiava nízku hodnotu koeficientu trenia počas celého trvania experimentu. V prípade stáleho miesta kontaktu (SCA) bol pozorovaný nárast koeficientu trenia (obr. 2-6). Tento jav je pravdepodobne spôsobený nárastom zaťaženia, ktoré je prenášané pevnou zložkou chrupky na úkor kvapalnej. Závislosť na rýchlosti je možné vidieť na obrázku 2-7, kde do hodnoty Pecletovho čísla 100 je zrejmy pokles, a následná stabilizácia koeficientu trenia. Ďalej bola zanalyzovaná veľkosť koeficientu trenia pri použití synoviálnej kvapaliny ako maziva, v porovnaní s PBS. Bolo dokázané, že pri použití synoviálnej kvapaliny ako maziva, dosahujeme nižších hodnôt koeficientu trenia.

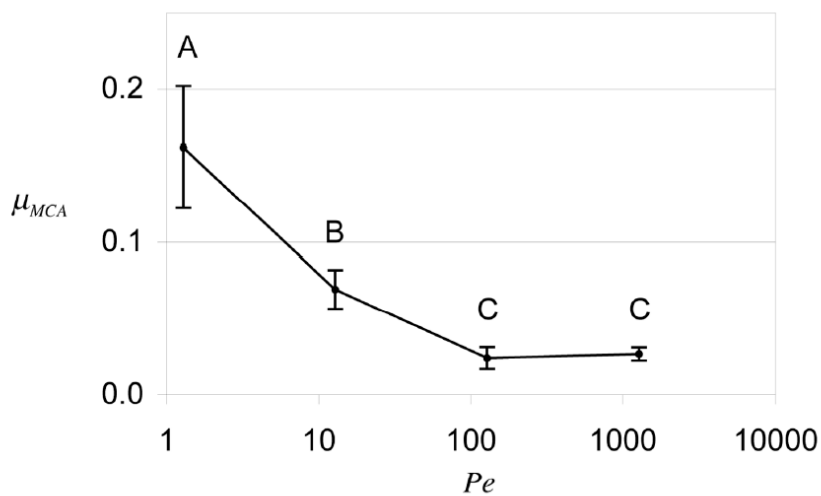
V štúdií boli zistené nasledujúce odpovede na pokladané otázky:

- Posúvajúca sa kontaktná plocha dokáže udržať nízku hodnotu súčiniteľa trenia za fyziologických podmienok zaťaženia počas celého trvania experimentu.

- Súčiniteľ trenia pri mazaní synoviálnou kvapalinou má skoro 1,5 krát menšiu hodnotu ako pri mazaní PBS. Súčiniteľ trenia pri posúvajúcej sa ploche kontaktu je okolo 60 krát menší ako pri nemennom mieste.



obr. 2-6 Závislosť koeficientu trenia na čase pre stálom (SCA) a migrujúcom (MCA) mieste kontaktu [9].



obr. 2-7 Závislosť koeficientu trenia na Pecletovom čísle pri migrujúcom mieste kontaktu [9].

[10] KIENLE, Sandra, Kathrin BOETTCHER, Lorenz WIEGLEB, Joanna URBAN, Rainer BURBKART, Oliver LIELEG a Thorsten HUGEL.

Comparison of friction and wear of articular cartilage on different length scales.

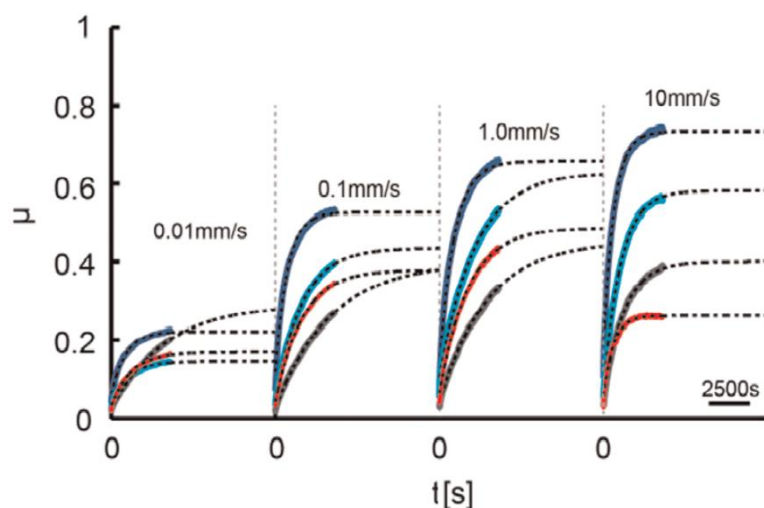
Journal of Biomechanics. 2015, 48(12), 3052-3058.

V tejto práci bolo skúmané, či pri zmene mazacej kvapaliny dôjde k zmene tribologických vlastností kĺbnej chrupky. Štúdia sa zameriava ako na medzný, tak aj dvojfázový režim mazania. Merania boli realizované ako pomocou mikroskopie atomárnych síl, tak aj s použitím rotačného tribometra. V štúdiu boli ako mazivá použité soľné roztoky s rozdielnymi koncentraciami a roztok obsahujúci HA.

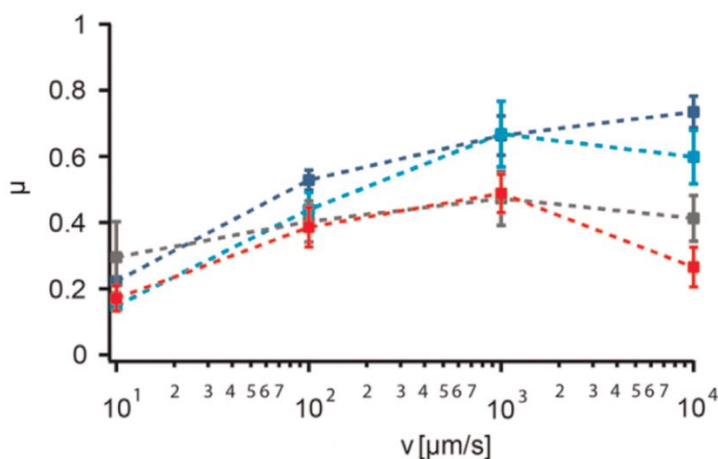
Na merania boli využité vzorky z oviec. Tie boli pripravené priamo po prijatí, a boli uskladnené v mrazničke v PBS. Pre merania na mikroskope atomárnych síl bolo použité zaťaženie od 30 do 110 nN. Pre merania na rotačnom tribometri bola použité zaťaženie 6 N. To spôsobovalo kontaktný tlak v hodnote 0,1 MPa. S každou vzorkou boli realizované štyri skúšky trenia s použitím rýchlostí 0,01; 0,1; 1 a 10 mm / s.

Výsledky

V práci bolo preukázané, že prítomnosť nabitých častí zmení tribologické vlastnosti a odolnosť proti opotrebovaniu (obr. 2-8 a obr. 2-9). Naproti tomu HA nepreukázala žiadny významný efekt na súčiniteli trenia. Bolo ale značne znížené opotrebovanie. Bolo potvrdené, že pridanie HA môže vylepšiť odolnosť voči opotrebovaniu. Táto zároveň štúdia potvrdzuje teóriu, že trenie a opotrebovanie nemusí mať nevyhnutný súvis.



obr. 2-8 Závislosť koeficientu trenia na čase pre rôzne druhy maziva. Očistená voda (tmavo modrá), roztok 0,154 M NaCl (svetlo modrá), roztok 2M NaCl (hnedá) a synoviálna kvapalina (červená) [10].



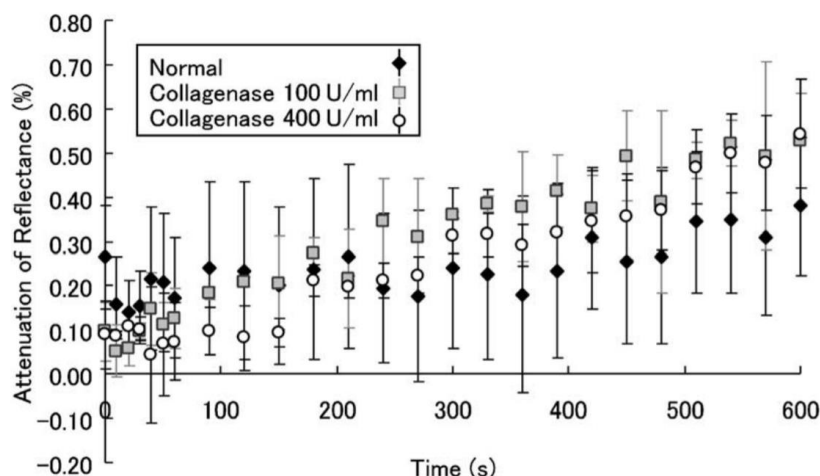
obr. 2-9 Závislosť koeficientu trenia na rýchlosti pre rôzne druhy maziva. Očistená voda (tmavo modrá), roztok 0,154 M NaCl (svetlo modrá), roztok 2M NaCl (hnedá) a synoviálna kvapalina (červená) [10].

[11] **NAKA, Marco Hiroshi, Koji HATTORI, Tetsuo OHASHI a Ken IKEUCHI.** Evaluation of the effect of collagen network degradation on the frictional characteristics of articular cartilage using a simultaneous analysis of the contact condition. *Clinical Biomechanics*. 2005, **20**(10), 1111–1118.

V malom počte štúdií, sa autori zameriavajú na vplyv kolagénu na trenie. V tejto štúdii autori skúmali vplyv degradácie kolagénnej siete na trecie vlastnosti kĺbnej chrupky. Vzorky boli vyrobené z bravčových končatín zmrazených do 1hod po porážke. Deň pred meraním boli vzorky rozmrazené a rozdelené na tri časti. Jedna, kontrolná, bez degradácie kolagénu uskladnená v PBS. Druhé dve boli uskladnené v roztoku s rôzne koncentrovanou kolagenázou. Koeficient trenia bol vypočítaný z merania normálovej a trecej sily na vlastnom tribometri.

Výsledky

Pri vzorkách degradovaných kolagenázou bolo pozorované nízke trenie na začiatku posúvania, po ktorom nasledovalo postupné zvýšenie trenia. V porovnaní s degradovanými vzorkami mali normálne vzorky na začiatku testu vyššiu hodnotu trenia a nízke trenie na konci testu (obr. 2-10). Povrchové podmienky a prítomnosť vody na kĺbnom povrchu hrajú dôležitú úlohu v mazaní synoviálnych kĺbov. Schopnosť uchovávať vodu pre degradované vzorky je narušená v dôsledku straty proteoglykánů, a preto nízke trenie pozorované na začiatku testu nie je dlhodobo udržateľné.



obr. 2-10 Vplyv degenerácie kolagénu na koeficient trenia [11].

2.2.2 Medzný režim mazania

Štruktúra chrupky porézna. Jej účinná veľkosť pórov sa pohybuje v rozhraní 2,0-6,5 nm. To, spoločne s nabitými skupinami na sieti proteoglykanov spôsobuje značne malú permeabilitu. Hodnoty v rozmedzí 10^{-15} až 10^{-16} m⁴ / N s [5]. Tok intersticiálnej tekutiny pri konštantnej záťaži tkaniva je tak sprevádzaný značnými odporovými silami. Tie učinia veľký nárast tlaku. Nato natlakovaná tekutá fáza prenáša použité zaťaženie, až sa tekutina pod aplikovanou záťažou nepretlačí do nezaťaženého priestoru chrupky. Tuhá zložka tak postupne prenáša aplikované zaťaženie. Až do stavu kde je celé zaťaženie prenášané len tuhú fázou. Je to sprevádzané postupným navyšovaním súčiniteľa trenia. Za takýchto podmienok mazivo adsorbované na povrchu zabráni priamemu styku dvoch povrchov, a tak minimalizuje trenie a opotrebenie [12]. Väčšina výskumu sa zameriava na určenie hlavnej mazacej zložky synoviálnej kvapaliny. Boli navrhnuté tri hlavné molekuly. HA, glykoproteín lubricín, a povrchovoaktívne fosfolipidy [13].

[14] **DESROCHERS, Jane, Matthias W. AMREIN a John R. MATYAS.**

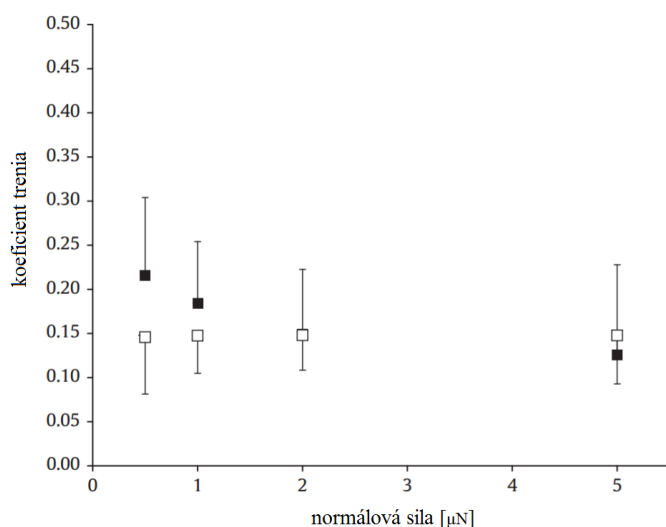
Microscale surface friction of articular cartilage in early osteoarthritis. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2013, 25, 11-22.

Autori v štúdiu zisťovali hodnotu súčiniteľa trenia povrchu kĺbnej chrupky za medzného režimu mazania. Súčiniteľ trenia na chrupke bol meraný na kĺbnom povrchu pomocou mikroskopie atomárnych síl. Na ktorom boli aplikované zaťaženia v rozhraní od 0,5 do 5 μN. Nato bol ešte skúmaný povrch chrupky pomocou skenovacieho elektrónového mikroskopu. Skúšobne parametre boli navrhnuté tak, aby spôsobovali kontaktné sily dostatočnej veľkosti pri malej relatívnej posuvovej rýchlosti. Takto rýchlo došlo

k odtlakovaniu intersticiálnej kvapaliny. Bol tak minimalizovaný efekt dvojfázového mazania.

Výsledky

Keďže analýzy mazania a opotrebovania sú ťažko realizované experimentálne, boli vykonané iba merania trenia. S toho boli vyvodené závery o vplyve povrchového opotrebovania na súčiniteli trenia chrupky. Bolo zistené, že súčiniteľ trenia narástol v pri použitom zaťažení do 0,5 μN , ale pri vyšších hodnotách zaťaženia (1-5 μN) nebol pozorovaný žiadny rozdiel (obr. 2-11). Poškodenia povrchu, ktoré boli pozorované na skenovacom elektrónovom mikroskope zahŕňali popraskanie a zdrsnenie povrchu chrupky.



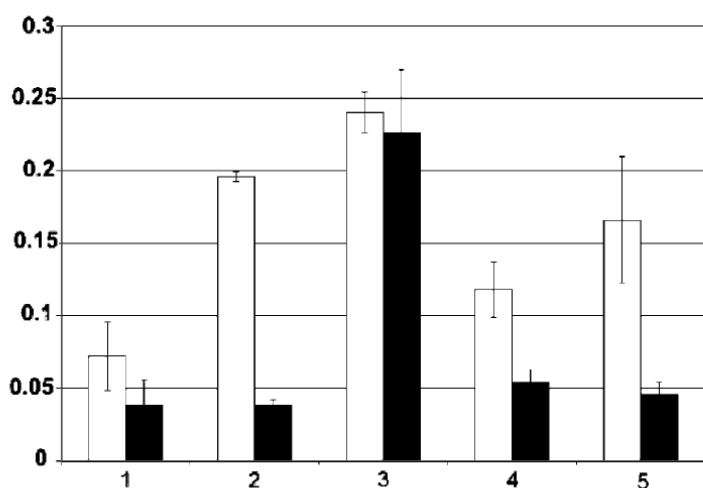
obr. 2-11 Závislosť koeficientu trenia na normálovej sile pre kontrolnú (\square) chrupku a pre chrupku s osteoartritiídou (\blacksquare) [14].

[15] **FORSEY, Richard W., John FISHER, Jonathan THOMPSON, Martin H. STONE, Carol BELL a Eileen INGHAM.** The effect of hyaluronic acid and phospholipid based lubricants on friction within a human cartilage damage model. *Biomaterials*. 2006, 27(26), 4581-4590.

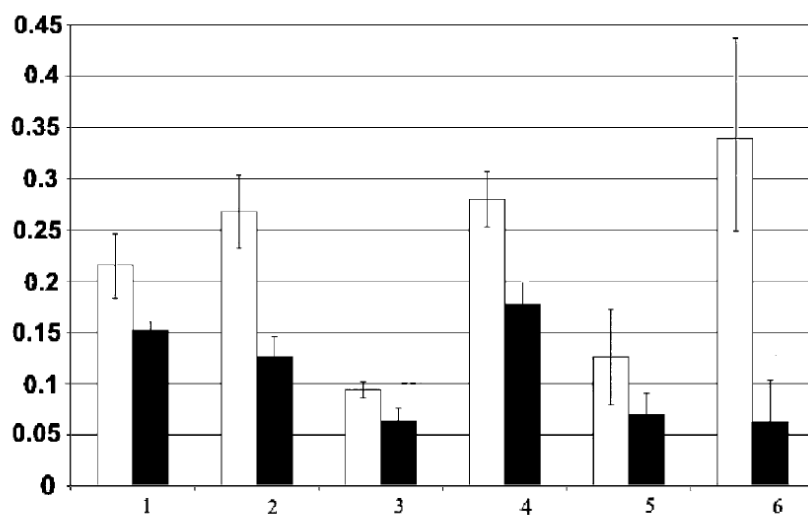
Cieľom v tejto štúdii bolo hodnotenie mazacích vlastností rôzne koncentrovanej vysokomolekulárnej HA, fosfolipidu (dipalmitoylfosfatidylcholín) a ich zmesi. Na experimenty bola použitá chrupka od osteoartritických pacientov, ktorí sa podrobili celkovej výmene kĺbu. Nato pomocou rezacieho noža boli vypreparované valcové vzorky s priemerom 5 mm. Merania boli realizované na navrhnutom tribometri. Na preverenie dlhodobých výhod HA bol skúman rozsah prieniku HA do tkaniva chrupky pri použití fluorescenčne značenej.

Výsledky

Aplikácia HA a fosfolipidu na poškodenú ľudskú chrupku vedie k lepšiemu mazaniu na povrchu chrupky (obr. 2-12 a obr. 2-13). Efekt HA nebol závislá na koncentrácii. Avšak bol pozorovaný značný vplyv koncentrácie na tribologické vlastnosti fosfolipidov. Okrem toho, pri kombinácii fosfolipidu s HA, bola preukázaná zvýšená mazacia schopnosť.



obr. 2-12 Zmenšenie koeficientu trenia v porovnaní HA (čierna) a Ringerovho roztoku (biela) pre jednotlivé vzorky [15].



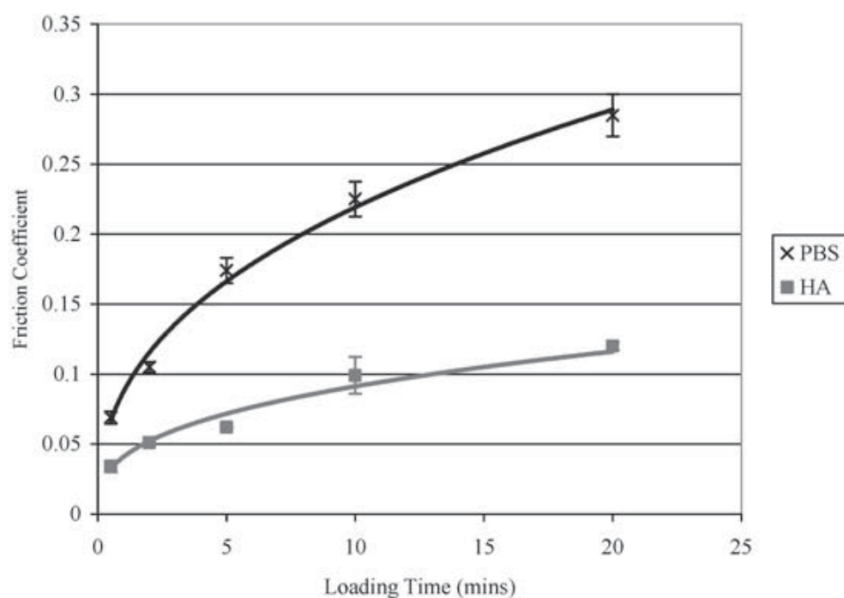
obr. 2-13 Zmenšenie koeficientu trenia v porovnaní fosfolipidu (čierna) a Ringerovho roztoku (biela) pre jednotlivé vzorky [15].

[16] **BELL, C. J., E. INGHAM a J. FISHER.** Influence of hyaluronic acid on the time-dependent friction response of articular cartilage under different conditions. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine.* 2005, **220**(1), 23–31.

Cieľom tejto štúdie bolo preskúmať mazacie vlastnosti kĺbnej chrupky za rôznych zaťažovacích podmienok, a porovnať ich s prídavkom terapeutickej HA. V štúdiu boli porovnané trecie odozvy zdravej a mechanicky poškodenej chrupky, aby sa simulovalo opotrebenie povrchu. Všetky testy boli realizované v konfigurácii pin-on-plate pri kontakte chrupka na chrupku. Na testy bola použitá hovädzia chrupka pripravená do 24 hod po porážke. Boli pripravené dosky 25 mm x 15 mm a kolík o priemere 9 mm s hrúbkou približne 10 mm, z čoho hrúbka chrupky bola 1 – 2 mm. Vzorky boli uskladnené v mrazničke pri -20 °C. Merania boli uskutočnené pri konštantnom zaťažení 25 N.

Výsledky

Bolo preukázané, že HA môže byť účinným medzným mazivom pre kĺbovú chrupku s použitím zdravého hovädzieho modelu za statických podmienok (obr. 2-14). V tejto štúdiu sa tiež ukázalo, že HA je účinné mazivo s použitím ekvivalentných tribologických podmienok pre chrupku s narušeným povrchom. Avšak v dynamických podmienkach, kde hlavnú rolu hraje dvojfázový režim mazania, HA bola menej účinná. HA má určitý prínos pri znižovaní dynamického trenia na poškodených povrchoch po dlhom klzaní, keď sa zistilo, že dvojfázový mechanizmus je menej účinný.



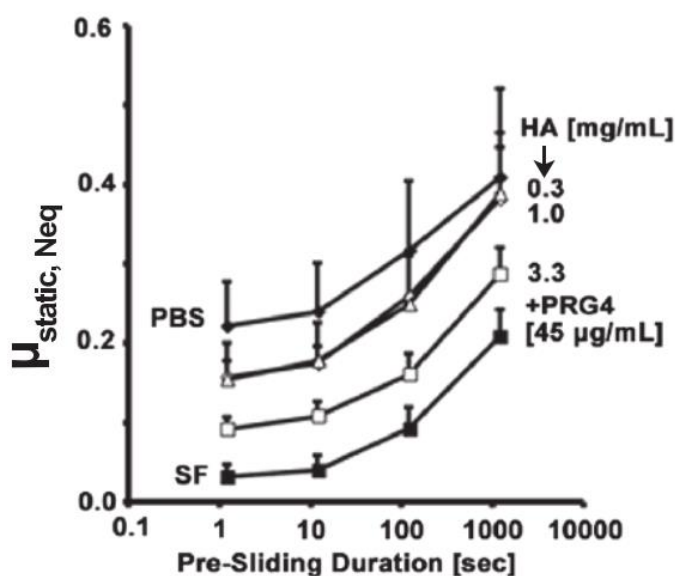
obr. 2-14 Závislosť koeficientu trenia na čase pre statické zaťažovanie [16].

[17] LUDWIG, Taryn E., Miles M. HUNTER a Tannin A. SCHMIDT. Cartilage boundary lubrication synergism is mediated by hyaluronan concentration and PRG4 concentration and structure. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2015, **16**(1), 1–10.

V tejto práci bolo skúmané, ako zmena koncentrácie HA a lubricínu v kombinácii zmení trecie vlastnosti kĺbnej chrupky. Testy boli realizované pri kontakte chrupka na chrupky. Na testy bola použitá hovädzia chrupka z dospelého jedinca. Vzorky boli umyté v PBS pri 4 °C a uskladnené s prídavkom proteázy pri -80 °C. Ako mazivo bola použitá roztok HA a lubricínu v PBS pri rôznych koncentráciách. Ako kontrolné mazivá boli použité čistý PBS a synoviálna kvapalina.

Výsledky

V štúdií bolo dokázané, že ako zmenšenie koncentrácie HA, tak aj lubricín ma za následok zmenšenie koeficientu trenia (obr. 2-15). V prípade kombinácie týchto dvoch látok bolo preukázané, že sa spoločne synergicky podieľajú na nízkom trení pri medznom mazaní kĺbnej chrupky. Bolo preukázané, že k strate synergických vlastností dochádza až pri veľmi nízkych koncentráciách HA a lubricínu. Pochopenie mechanizmu funkčného synergického účinku by mohlo mať veľkú hodnotu pri optimalizácii koncentrácií a štruktúrneho zloženia na ďalšie zlepšenie súčasnej intra-artikulárnej bioterapeutickej liečby.



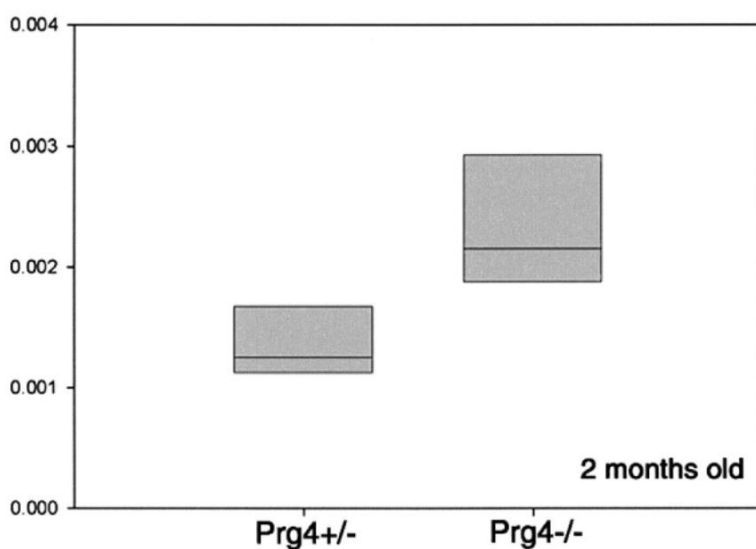
obr. 2-15 Závislosť koeficientu trenia na čase pre rôzne koncentrácie kyseliny hyaluróvej [17].

[18] JAY, Gregory D., Jahn R. TORRES, David K. RHEE, Heikki J. HELMINEN, Mika M. HYTINNEN, Chung Ja CHA, Khaled ELSAID, Kyung Suk KIM, Yajun CUI a Matthew L. WARMAN. Association between friction and wear in diarthrodial joints lacking lubricin. *Arthritis and Rheumatism*. 2007, **56**(11), 3662–3669.

V štúdií bolo skúmané ako sa zmení koeficient trenia kĺbnej chrupky pri mazaní synoviálnou kvapalinou odobratou od jedincov s vrodenou deficienciou na lubricín. Na výskum autori vypestovali geneticky modifikované laboratórne myši, ktoré mali zníženú produkciu lubricínu. Merania boli realizované na malom kyvadle na kolennom kĺbe. Koeficient trenia bol vypočítaný zo spomalenia kmitania. Ďalej bolo mikroskopiou atomárnych síl analyzované opotrebenie povrchu. Na merania boli použité myši z rôznym vekom života, aby bol posúdení vplyv lubricínu nielen na trenie ale aj na opotrebenie in vivo.

Výsledky

Synoviálna kvapalina s nedostatkom lubricínu nevedla k zníženiu trenia v medznom režime. Kĺby od myši s deficienciou lubricínu vykazovali vyššie hodnoty trenia a opotrebenia ako kĺby z kontrolnej vzorky (obr. 2-16). Tieto dáta ukazujú, že trenie je spojené s opotrebením povrchu chrupky in vivo. Z toho vyplýva, že získaná degradácia lubricínu vyskytujúca sa u zápalových ochorení kĺbov predisponuje chrupku k poškodeniu. A konečne naznačuje, že lubricín, alebo podobné biomolekuly, budú mať využitie v umelých zariadeniach, v ktorých je zníženie trenia nevyhnutné.



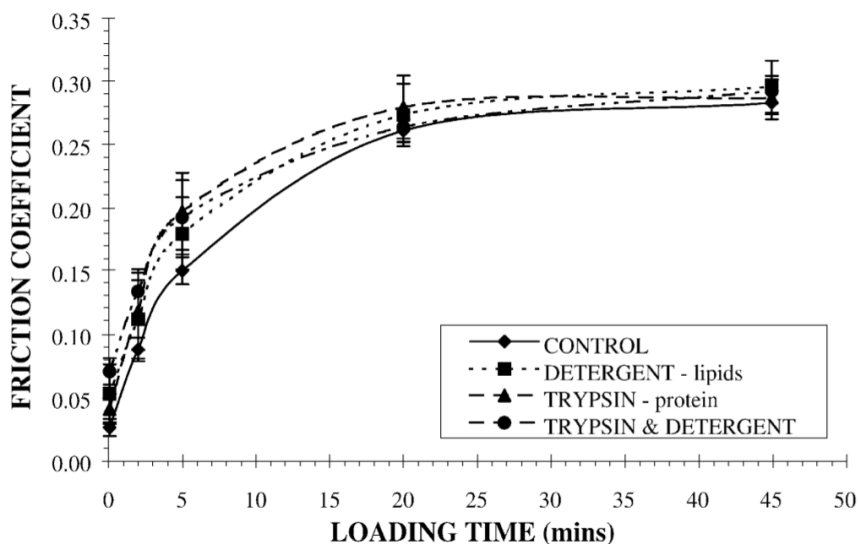
obr. 2-16 Veľkosť koeficientu trenia pre normálnu chrupku (vľavo) a s deficienciou na lubricín (vpravo) [18].

[19] **PICKARD, J. E., J. FISHER, E. INGHAM a J. EGAN.** Investigation into the effects of proteins and lipids on the frictional properties of articular cartilage. *Biomaterials*. 1998, roč. 19, č. 19, s. 1807–1812. ISSN 01429612.

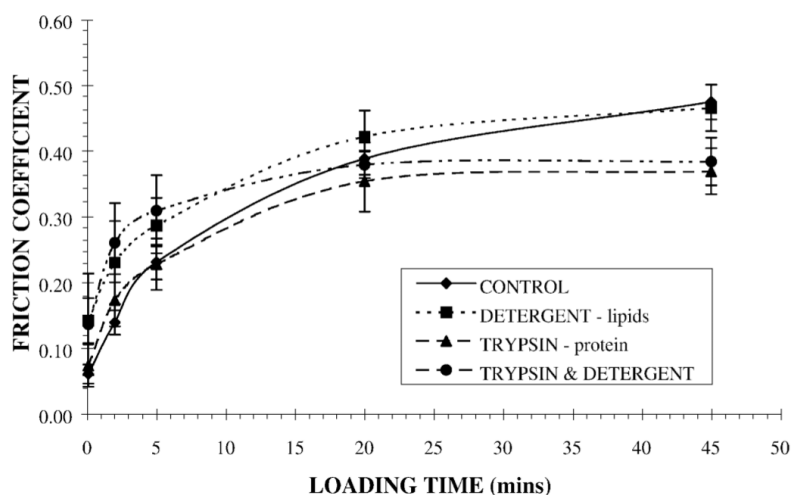
Cieľom tejto štúdie bolo preskúmať účinky proteínov a lipidov na trecie vlastnosti kĺbnej chrupky v zmiešanom a medznom režime mazania. Na merania boli použité bravčové chrupky. Na jedných boli pomocou proteázy (trypsín) na povrchu odstránené bielkoviny. Na druhých, pomocou detergentu (Triton X-100) odstránené lipidy, aby sa preskúmali rozdiely v ich schopnostiach mazania. Chrupky boli uskladnené v mrazničke v Ringerovom roztoku. Skúšky sa uskutočnili na recipročnom tribometri za kontaktných tlakov 0,5 a 4 MPa, a rýchlosti 4 mm/s.

Výsledky

Výsledky meraní trenia uskutočnených pri kontaktnom tlaku 4 MPa ukázali mierne zvýšenie koeficientu trenia pre lipidovo aj bielkovinovo poškodenú chrupku v porovnaní s kontrolnou chrupkou (obr. 2-17). Tieto rozdiely boli zreteľnejšie pri kratších časoch zaťaženia. Skúšky pri nižšom kontaktnom tlaku 0,5 MPa ukázali, že odstránenie lipidov namáčaním povrchu detergentom zvyšovalo koeficient trenia pri kratších dobách zaťaženia, ale nemalo žiadny účinok pri dlhších časoch zaťaženia (obr. 2-18). Poškodenie chrupky trypsínom nemalo vplyv na koeficient trenia pri kratších dobách zaťaženia, ale znížilo koeficient trenia pri dlhšom zaťažení. Oba tieto výsledky boli následne potvrdené vzorkami, ktoré mali odstránené s povrchu obe zložky.



obr. 2-17 Závislosť koeficientu trenia na čase pre rôzne poškodené chrupky pri 4 MPa zaťažení [19].



obr. 2-18 Závislosť koeficientu trenia na čase pre rôzne poškodené chrupky pri 0,5 MPa zaťažení [19].

[20] **MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Kazuhiro NAKASHIMA, Yoshinori SAWAE a Nobuo SAKAI.** Influence of synovia constituents on tribological behaviors of articular cartilage. Friction. 2013, roč. 1, č. 2, s. 150–162. ISSN 22237704.

V tejto štúdii boli pozorované zmeny v trení pre a poškodené a nepoškodené vzorky kĺbnej chrupky proti sklenenej doske mazanej modelovou synoviálnou kvapalinou, obsahujúcou fosfolipidy, proteíny a HA. Merania boli realizované na recipročnom tribometri pri rýchlosti 20 mm/s a 9.8 N. Poškodené vzorky boli pripravené zotretím povrchu utierkou. Poškodenie povrchu bolo následne analyzované pomocou AFM, kde bolo potvrdené poškodenie gélovej povrchovej vrstvy. Použité mazivá a hmotnostné koncentrácie sú zobrazené v obr. 2-19.

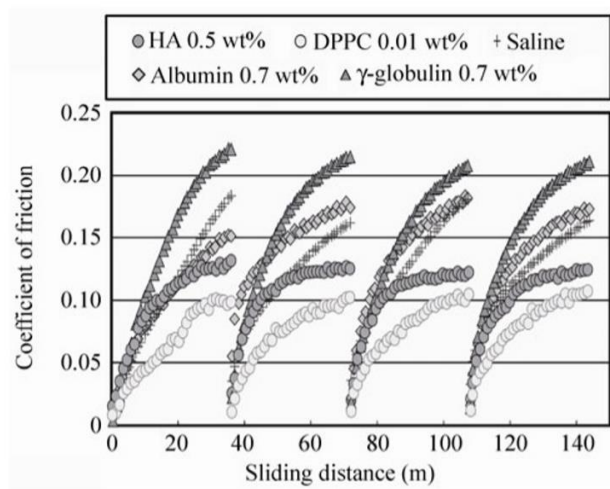
Table 1 Compositions of lubricants (wt%) as saline solutions.

	HA:sodium hyaluronate	DPPC	Albumin	γ -globulin
1	0	0	0	0
2	0	0	0.7	0
3	0	0	0	0.7
4	0.5	0	0	0
5	0.5	0	0.7	0
6	0.5	0	0	0.7
7	0	0.01	0	0
8	0	0.01	0.7	0
9	0	0.01	0	0.7
10	0.5	0.01	0	0
11	0.5	0.01	0.7	0
12	0.5	0.01	0	0.7
13	0.5	0.01	1.4	0.7

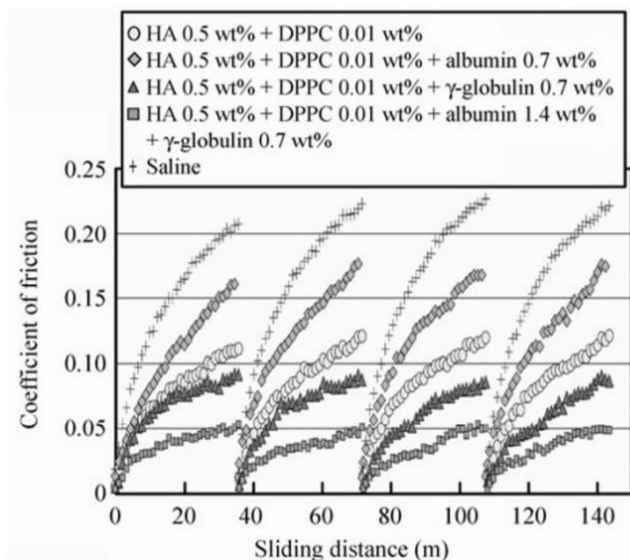
obr. 2-19 Tabuľka použitých mazív, a koncentrácií [20].

Výsledky

Optimálna kompozícia v mazivách pre nízke trenie a minimálne opotrebovanie neporušených a poškodených vzoriek chrupky vykazovala podobné zloženie ako prirodzená synoviálna kvapalina. Ďalej sa ukázalo, že účinnosť zložiek maziva sa mení v závislosti od povrchových podmienok kĺbovej chrupky. Na obrázku 2-20 je vidieť závislosť jednotlivých zložiek. Bolo ukázané, že okrem γ -globulínu, všetky zložky synoviálnej kvapaliny znižujú koeficient trenia. Na obrázku 2-21 je zjavné, že pri kombinácii všetkých zložiek synoviálnej kvapaliny, dosiahneme najnižších hodnôt koeficientu trenia.



obr. 2-20 Závislosť zložiek na trení pre neporušenú chrupku [20].



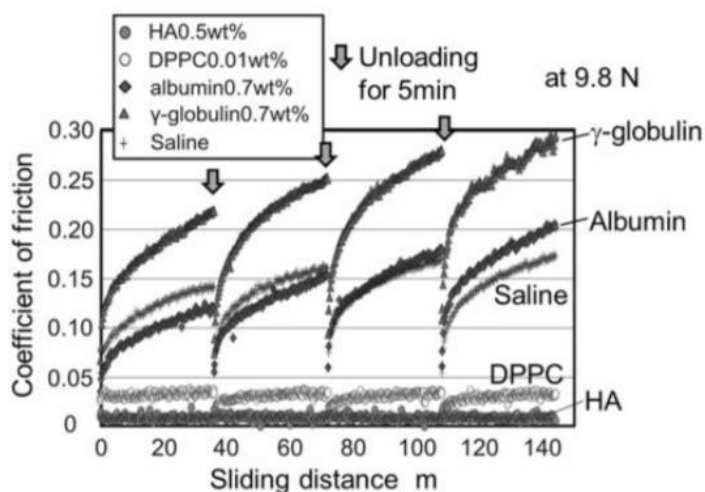
obr. 2-21 Závislosť koeficientu trenia pre vybrané mazivá [20].

[21] MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Kazuhiro NAKASHIMA, Tetsuo YAMAGUCHI, Yoshinori SAWAE, Nobuo SAKAI a Atsushi SUZUKI. Superior lubricity in articular cartilage and artificial hydrogel cartilage. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology. 2014, roč. 228, č. 10, s. 1099–1111. ISSN 2041305X.

V tejto štúdii autori skúmali trecie vlastnosti kĺbnej chrupky. Na rozdiel od ostatných štúdií v nej autori popri prirodzenej chrupke skúmali modelovú kĺbnu chrupku. Ako modelové chrupky boli vybrané dva druhy hydrogélů (PVA: polyvinylalkohol) vyrobeného rozličnými spôsobmi a rozdielnymi mechanickými vlastnosťami. Ako prirodzená chrupka boli použité bravčové elipsovité zložky. Merania boli realizované na recipročnom tribometri pri zaťaženiach 2,94 N a 9,8 N pri rýchlosti 20 mm/s. Jedno meranie pozostávalo so 4 zaťažovacích cyklov. Prejdená dráha pri jednom cykle bola 36 m, a medzi cyklami bola 5 m pauza na spätnú rehydratáciu. Ako mazivá boli použité soľné roztoky s pridanými jednotlivými zložkami synoviálnej kvapaliny.

Výsledky

Ako je vidieť na obrázku 2-22, na tribologické vlastnosti PVA hydrogélů sú veľmi podobné s prirodzenou chrupkou. Ako v predchádzajúcej štúdii, aj tu je zaznamenaný nárast koeficientu trenia pri pridaní γ -globulínu do soľného roztoku. Pri pridaní ostatných mazív, hlavne HA, a fosfolipidu je zjavný výrazný pokles koeficientu trenia. Ďalej bolo ukázané, že tribologické vlastnosti hydrogélů vyrobeného metódou cast-drying boli lepšie v porovnaní s metódou freeze-thawing. Avšak kompresné vlastnosti freeze-thaw hydrogélů boli lepšie.



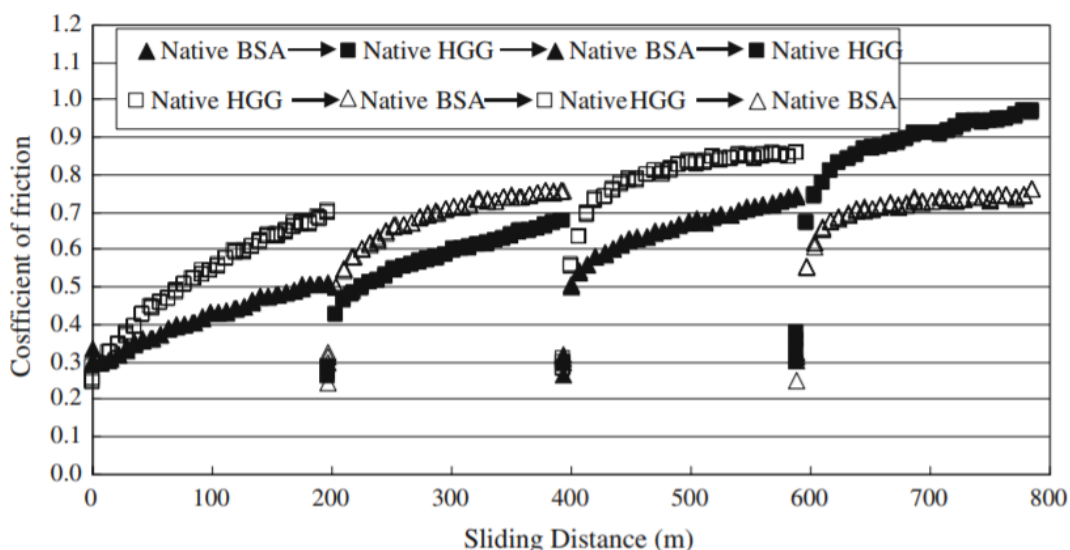
obr. 2-22 Závislosť koeficientu trenia na prejdenej dráhe [21].

[22] NAKASHIMA, K., Y. SAWAE a T. MURAKAMI. Influence of protein conformation on frictional properties of poly (vinyl alcohol) hydrogel for artificial cartilage. Tribology Letters. 2007, roč. 26, č. 2, s. 145–151. ISSN 10238883.

Cieľom tejto štúdie bolo objasniť mechanizmus adsorpcie proteínov na povrch PVA hydrogélu. Proteíny hrajú významnú rolu pri tvorbe medzného mazacieho filmu, a tak výrazne vplývajú na trecie vlastnosti nielen kĺbnej chrupky, ale aj hydrogélu, ktorý v budúcnosti môže byť použitý ako náhrada poškodenej kĺbnej chrupky. Ako mazivo bol pri meraniach použitý soľný roztok s prídavkom proteínov. Mazivo bolo po príprave uskladnené na jednu noc v chladničke pri 4 °C, aby sa proteíny rozpustili. Na pozorovanie adsorbovanej vrstvy proteínov bol použitý spektrofotometer. Na meranie trecích vlastností bol použitý recipročný tribometer v konfigurácii hydrogél-sklo. Merania boli realizované pri zaťažení 2,94 N pri rýchlosti 20 mm/s.

Výsledky

V štúdiu bolo ukázané, že proteínový film je dôležitý pre dlhú životnosť hydrogélu v klinickom použití. Albumín aj γ -globulín dokážu veľmi ľahko priľnúť k povrchu. Optimálna regulácia zloženia proteínov v synoviálnej kvapaline prispieva k zmenšeniu trenia aj opotrebovania. Na trecie vlastnosti má výrazný vplyv prvý adsorbovaný proteín. Pri použití Albumínu (BSA) je pri striedaní proteínov vidieť postupný nárast koeficientu trenia. Naproti tomu, pri použití γ -globulínu, ako prvého maziva, je spozorovaný pokles koeficientu trenia pre dlhšie klzné dráhy. Autori to odôvodnili vytvorením vhodnej kombinácií proteínových vrstiev.



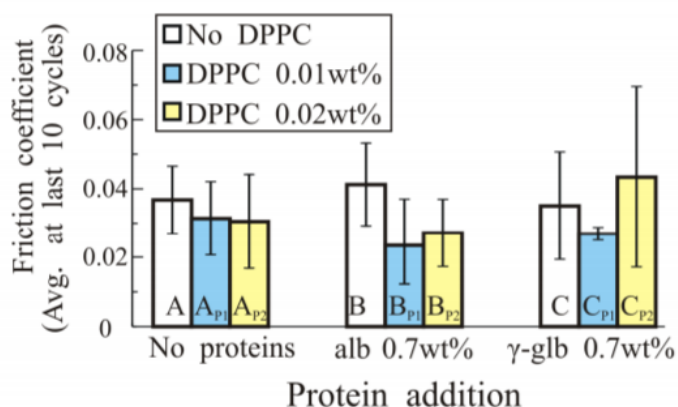
obr. 2-23 Závislosť koeficientu trenia na klznej dráhe pre rôzne vrstvy proteínového filmu [22].

[23] **YARIMITSU, Seido, Kazuhiro NAKASHIMA, Yoshinori SAWAE a Teruo MURAKAMI.** Influence of phospholipid and protein constituents on tribological properties of artificial hydrogel cartilage material. *Journal of Biomechanical Science and Engineering*. 2013, roč. 8, č. 3, s. 257–267. ISSN 18809863.

V tejto štúdii bol skúmaný vplyv fosfolipidu a zložiek proteínu na trenie a opotrebovanie umelej hydrogélovej chrupky. Merania boli realizované na recipročnom tribometri v konfigurácii hydrogél-hydrogél. Kontaktný pár bol použitý elipsoid a rovinná plocha. PVA hydrogél bol pripravený metódou freeze-thaw, kde počet zmrazení a rozmrazení bol 5 krát. Bolo použité zaťaženie o hodnote 2,94 N a rýchlosti 20 mm/s. Ako základné mazivo bol použitý soľný roztok s prídavkom fosfolipidu. Ako ďalšie mazivá boli vytvorené pridaním albumínu alebo γ -globulínu do roztoku s fosfolipidom.

Výsledky

Bolo preukázané, že fosfolipidy prispievajú k zníženiu trenia PVA hydrogélú a vhodná kombinácia fosfolipidov a proteínov významne znižuje opotrebovanie PVA hydrogélú. (obr. 2-24) Navyše, ako koncentrácia, tak relatívny pomer proteínov a fosfolipidov sú dôležitými faktormi, aby tieto zložky mohli fungovať ako medzné mazivá. Tieto zistenia prispeli k objasneniu mechanizmov opotrebovania PVA hydrogélú a zlepšeniu materiálových vlastností PVA hydrogélú vzhľadom na vplyvy synoviálnej kvapaliny ako maziva.



obr. 2-24 Vplyv koeficientu trenia na fosfolipide (DPPC) a proteínov [23].

[24] **SEROR, Jasmine, Yulia MERKHER, Nir KAMPF, Lisa COLLINSON, Anthony J. DAY, Alice MAROUDAS a Jacob KLEIN.** Articular cartilage proteoglycans as boundary lubricants: Structure and frictional interaction of surface-attached hyaluronan and hyaluronan-aggreacan complexes. *Biomacromolecules*. 2011, roč. 12, č. 10, s. 3432–3443. ISSN 15257797.

V štúdií autori skúmali vplyv naviazania HA na agrekan v prítomnosti povrchového proteínu na trecie vlastnosti a štruktúru na povrchu chrupky. Štruktúra na povrchu bola skúmaná

pomocou AFM, a na merania trenia autori používali zariadenie na meranie povrchových síl. Na rozdiel od ostatných štúdií, kde autori používali priamo chrupku, poprípade hydrogélovú náhradu, autori v štúdií použili kontakt dvoch sľudových postriebrených platní. Na ne bol nanesený proteín avidín extrahovaný z vaječného bielka. Na avidín bola potom prichytená HA a agrekan za vzniku proteoglikanového agregátu. Ako kontrolné meranie boli použité čisté sľudové platne.

Výsledky

V štúdií bolo preukázané, komplex agrekátu a HA je oveľa lepším medzným mazivom ako samotná HA. Autori to pripisujú hydratacií tekutín viazaných na vysoko nabité segmenty glykozaminoglykátu na agregovanom jadre proteínu. Semikvantitatívny model osmotického tlaku bol použitý na opis profilu normálnej sily medzi povrchmi a interpretáciu medzného mazacieho mechanizmu.

[25] **ZHU, Linyi, Jasmine SEROR, Anthony J. DAY, Nir KAMPF a Jacob KLEIN.** Ultra-low friction between boundary layers of hyaluronan-phosphatidylcholine complexes. *Acta Biomaterialia*. 2017, roč. 59, s. 283–292. ISSN 18787568.

V štúdií bol skúmaný vplyv rôznych druhov fosfolipidov na trenie v prítomnosti HA. Zariadenia na meranie boli použité rovnaké, ako v predchádzajúcej štúdií. Na postriebrenú sľudovú platňu bol taktiež adsorbovaný avidín a HA a následne na ne fosfolipidy. Boli použité tri druhy fosfolipidov. Hydrogénovaný sójový fosfatidylcholín (HSPC), 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-fosfatidylcholín (DMPC) a 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-fosfocholín (POPC).

Výsledky

Bolo preukázané, že fosfolipidy s kratšími alebo nenasýtenými acylovými koncami (POPC, DMPC), a teda s menej robustnou, alebo menej tuhú štruktúrou, zabezpečujú dobré mazanie až do tlakov cca. 10-20 atm, zatiaľ čo tie s dlhšími koncami, robustnejšie komplexy HSPC, by mohli znížiť klzné trenie aj pri najvyšších fyziologicky relevantných tlakoch (cca 150 atm). Toto správanie, spolu s navrhovanou podobnou štruktúrou medznej mazacej vrstvy na povrchoch kĺbovej chrupky naznačuje možnú súčinnosť rôznych synoviálnych fosfolipidov pri vytváraní mazacích medzných vrstiev, ktoré efektívne znižujú trenie v celom rozsahu fyziologického tlaku.

3 ANALÝZA PROBLÉMU A CIELE PRÁCE

3.1 Analýza, interpretácia a zhodnotenie rešerše

V závislosti na zaťažovacích podmienkach môže klb fungovať vo viacerých režimoch mazania. Je to spôsobené dvojfázovým zložením chrupky. V štúdií [12] bol tento dvojfázový charakter opísaný. Autori v nej preukázali, že kvapalina dokáže prenášať časť zaťaženia. V prípade stáleho zaťaženia je tekutina z miesta kontaktu vytlačená. Pevná zložka tak postupne prenáša väčšiu časť zaťaženia. Režim tak postupne prechádza do medzného mazania. Závislosť na čase bola preukázaná autormi v štúdií [6]. Bolo dokázané, že hodnota súčiniteľa trenia rastie až sa na koniec sa ustáli, keď je už zaťaženie prenášané iba pevnou zložkou chrupky. Vlastnosť chrupky spätne rehydratovať tkanivo tak vo veľkej miere ovplyvňuje režim mazania. Samotná rehydratácia je však ale ovplyvnená posuvovou rýchlosťou [10], alebo či je miesto kontaktu presúvané [9]. Bolo zistené, že pri väčšej koncentrácii iónov klesá súčiniteľ trenia [26].

Za medzného režimu mazania slúži synoviálna kvapalina ako medzné mazivo. Bolo tiež dokázané, že výrazne vplýva nielen na hodnoty trenia, ale aj opotrebovanie povrchu [6]. Ohľadom vplyvu zloženia synoviálnej kvapaliny bola veľká časť štúdií zameraná na určenie zložky zodpovednej za mazacie vlastnosti. Hills [27] študovali efekt enzymatického rozloženia samostatných zložiek. Pri rozložení HA nebola spozorovaná žiadna významná zmena v trení. Najväčší vplyv malo rozloženie fosfolipidov. Pri rozložení proteínov však bolo spozorované mierne zlepšenie mazacích vlastností. Naproti tomu Bell [16] skúmal vplyv soľného roztoku a HA, a spozoroval významné zlepšenie mazacích vlastností pri pridaní HA do roztoku. Forsey [15] skúmal vplyv HA a fosfolipidu. Účinnosť HA nebola závislá od koncentrácie. Koncentrácia však mala veľký vplyv na tribologické vlastnosti fosfolipidu. V štúdií [19], kde bol sledovaný vplyv fosfolipidov a proteínov, výsledky ukázali mierne zvýšenie koeficientu trenia pre lipidovo aj bielkovinovo poškodenú chrupku v porovnaní s kontrolnou chrupkou. Rozdiely boli zreteľnejšie pri kratších časoch zaťaženia. Vplyv lubricínu bol analyzovaný v štúdií [18], v ktorej bola synoviálna kvapalina extrahovaná od pacientov so zmenšenou schopnosťou tvorby lubricínu. Táto synoviálna kvapalina mala omnoho horšie tribologické vlastnosti v porovnaní so synoviálnou kvapalinou extrahovanou od zdravého pacienta. Naviac Ludwig [17] a Schmidt [28] ukázali, že pri kombinácii lubricínu, HA a fosfolipidov dochádza ku synergickému zlepšeniu tribologických vlastností. Z literárnej rešerše vyplýva, že každá zložka, môže pôsobiť ako medzné mazivo. Žiadna zložka však nedokázala znížiť trenie na úroveň kompletnej synoviálnej kvapaliny.

Niekoľko štúdií sa zaoberalo analýzou PVA hydrogél. Hydrogél má podobné vlastnosti, ako prirodzená chrupka, a v budúcnosti sa predpokladá použitie v klinickej oblasti ako náhrada

poškodenej chrupky [21]. V štúdií bol skúmaný vplyv jednotlivých zložiek synoviálnej kvapaliny na trenie. Bolo zistené, že jednotlivé zložky pri kontakte hydrogélu so sklom majú rovnaký vplyv ako pri prirodzenej chrupke. Vplyv adsorbovanej proteínovej vrstvy bol skúmaný v štúdií [22]. Na trenie má významný vplyv vrstvenie proteínových vrstiev. V prípade γ -globulínu, ako prvej vrstvy došlo v prípade dlhotrvajúceho testu k zmenšeniu hodnoty trenia. Avšak v štúdií [21], kde bol hodnotený samostatný vplyv zložiek bolo ukázané, že γ -globulín trenie naopak zvýši. V štúdií [23] bol skúmaný vplyv fosfolipidu v kombinácii s proteínmi. Bolo ukázané že na tribologické vlastnosti má výrazný vplyv koncentrácia fosfolipidu, kde pri hodnotách 0,1 hmotnostného percenta bola zistená zníženie koeficientu trenia. Pri koncentrácií 0,2 bolo naopak namerané zväčšenie hodnoty. V štúdiách autorov pod vedením Kleina [24, 25] bolo preukázané, že prítomnosť proteoglykanu má pozitívny vplyv na trecie vlastnosti, a že trenie závisí na tom, aký je použitý druh fosfolipidu sa pri kombinácii s kyselinou hyaluronovou.

Väčšina meraní bola realizovaná na recipročnom tribometri v konfigurácii pin-on-plate. Niektoré štúdie však používali mikroskop atomárnych síl [14], poprípade kyvadlový simulátor [18]. Použité zaťaženia boli do 10 N, a rýchlosti do 5 mm/s. V niektorých štúdiách boli použité vyššie rýchlosti, ale pri vyšších rýchlostiach môže nastať hydrodynamický režim mazania. Ten sa však pri fyziologických podmienkach zaťaženia nevyskytuje [29]. Ako alternatíva ku chrupke ľudskej bola v štúdiách použitá hovädzia, alebo bravčová chrupka. Hoci sa v štruktúre mierne líšia, kvalitatívne je však možné jednotlivé výsledky porovnať. Štúdia [30] ukázala, že zamrazenie chrupkových vzoriek nemá výrazný vplyv na tribologické vlastnosti. Je tak vhodné vzorky s dôvodu uskladnenia zamraziť, čo spomalí prirodzenú degradáciu tkaniva. Vzorky boli v štúdiách zaliate PBS. Je to soľný roztok o fyziologickej koncentrácií soli s prídavkom fosfátových solí. Tie sú zodpovedné za stálosť pH.

3.2 Podstata a ciele diplomovej práce

Cieľom je popísať vplyv zloženia modelovej synoviálnej kvapaliny na trecie vlastnosti kĺbnej chrupky. Študovaná bude rola použitej koncentrácie, a to osteoartritická v porovnaní s fyziologickou, a to pri rozdielnych kinematických a zaťažovacích podmienkach. Pre splnenie hlavného cieľa práce bolo riešenie rozdelené na tieto parciálne ciele:

- vykonať kritickú rešerš aktuálnych vedeckých publikácií a navrhnúť podmienky experimentov
- navrhnúť metodiku extrakcie a uchovania vzoriek chrupky pri minimálnom ovplyvnení jej prirodzených vlastností
- vykonať recipročné testy a experimentálne opísať vplyv zloženia synoviálnej kvapaliny na súčiniteľ trenia

- posúdiť vplyv kinematických podmienok a kontaktného tlaku v kontakte chrupky na súčiniteľ trenia

4 MATERIÁL A METÓDY

4.1 Experimentálne zariadenie

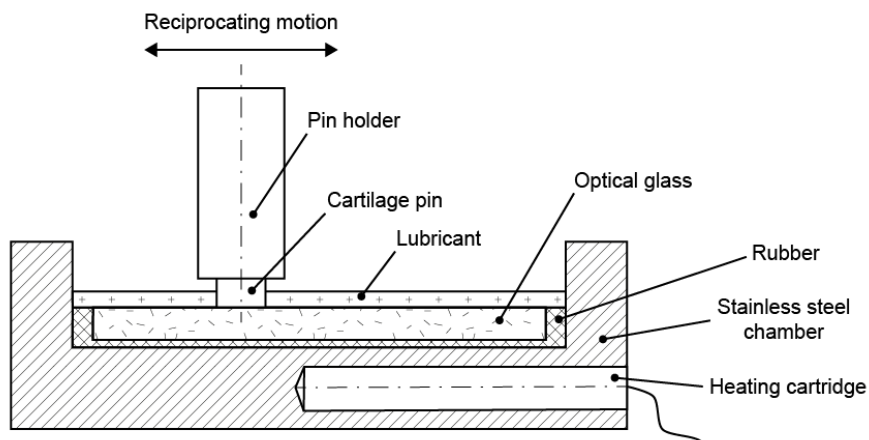
Experimentálne merania budú realizované na univerzálnom tribometri Tribolab od spoločnosti Bruker s použitím recipročného modulu v konfigurácii pin-on-plate (obr. 4-1).



obr. 4-1 Experimentálne zariadenie (Bruker Tribolab)

Schému experimentálnej konfigurácie je vidieť na obrázku 4-2. Do pohyblivej hornej časti je vložený chrupkový pin. V spodnej nehybnej časti je vložené optické sklo. Pri meraní dôjde pomocou lineárneho vedenia k stlačeniu pružiny, ktorá vyvodí požadované zaťaženia. Následne dôjde k recipročnému pohybu pohyblivej časti, počas ktorého je pomocou tenzometrických silomerov meraná trecia sila. Pre nutnosť regulácie teploty bola vyrobená hliníková vanička s dierami pre výhrevné patróny. Pomocou PID regulátora je následne regulovaná teplota na fyziologickú hodnotu 37 °C. Zaťaženie a rýchlosti sa nastavujú na tribometri a na zabezpečenie teploty bude použitá výhrevná patróna s PID regulátorom.

Miesto kontaktu je plne ponorené v mazive, aby nedošlo k nechcenému hladovaniu kontaktu.



obr. 4-2 Schéma experimentálneho uzla.

4.2 Použité vzorky

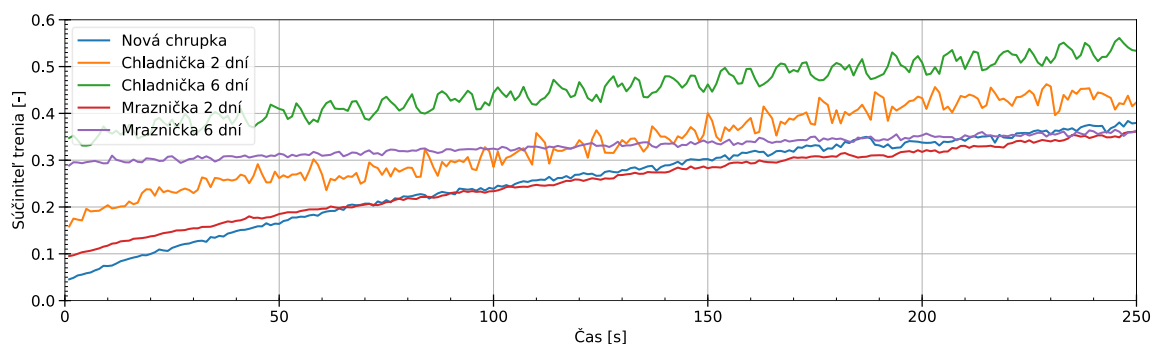
Chrupkové vzorky budú extrahované z bravčových bedrových kostí. Kosti budú zabezpečené od lokálneho mäsiara, a uskladnené v ľadovom boxe. Následne piny budú pripravené do 24 h od porážky. V štúdiách je často pin vyvrtaný pomocou dutého vrtáka. Chrupková kontaktná plocha je tak počas vrtania nedotknutá a nedochádza tak k ovplyvneniu jej vlastností. S toho dôvodu bol na extrakciu vzoriek zvolený rovnaký spôsob. Za týmto účelom bol zabezpečený dutý vrták umožňujúci vyvrtanie pinu s priemerom 5,6 mm (obr. 4-3).



obr. 4-3 Chrupkový pin.

V štúdií[30] bolo preukázané, že mechanické vlastnosti zmrazením ostávajú nemenné. Boli však uskutočnené kontrolné experimenty. Chrupavkový pin bol skladovaný v prostredí s rozdielnou teplotou rôznu dobu a následne boli uskutočnené experimenty s použitím PBS ako maziva. Z obrázku 4-4 je zrejmé, že uskladnenie v chladničke negatívne ovplyvní

výsledky. Avšak pri uskladnení v mrazničke aj po dlhšiu dobu nedošlo k žiadnemu ovplyvneniu. Preto bolo zvolené uskladnenie vzoriek v mrazničke pri teplote -22 °C.



obr. 4-4 Vplyv teploty uskladnenia vzoriek.

Pre zachovanie prirodzenej salinity a kyslosti budú chrupkové piny počas uskladnenia ponorené v PBS.

4.3 Použité mazivá

Ako mazivo bude použitá modelová synoviálna kvapalina. Je to soľný roztok, kde je ako základ použitý PBS, do ktorého budú pridane požadované zložky. Použité koncentrácie budú volené na základe práce Galandákovvej[31] tak, aby reprezentovali koncentrácie zdravých pacientov a pacientov s osteoartrózou (obr. 4-5). Všetky vzorky a mazivá budú pripravené autorom práce.

Zdraví pacienti		Pacienti s osteoartrózou	
Zloženie	koncentrácia (mg/ml)	Zloženie	koncentrácia (mg/ml)
Albumín	20	Albumín	24,9
γ-globulín	3,6	γ-globulín	6,1
Kyselina hyalurónová	2,5	Kyselina hyalurónová	1,49
Fosfolipidy	0,15	Fosfolipidy	0,34

V prípade mazív s prídavkom HA alebo fosfolipidu budú tieto zložky pre zlú rozpustiteľnosť namiešané samostatne v magnetickej miešačke, a následne budú primiešané k roztoku proteíny. Mazivo bude po príprave po dobu 24h uskladnené v chladničke pri teplote 4 °C, aby sa proteíny rozpustili. Namiešané mazivá potom budú uskladnené v mrazničke pri teplote -22 °C. Zvolené mazivá je možné vidieť na obrázku 4-6.

1	Albumín			
2		γ -globulín		
3	Albumín	γ -globulín		
4	Albumín		Kyselina hyalurónová	
5		γ -globulín	Kyselina hyalurónová	
6	Albumín	γ -globulín	Kyselina hyalurónová	
7	Albumín			Fosfolipidy
8		γ -globulín		Fosfolipidy
9	Albumín	γ -globulín		Fosfolipidy
10	Albumín		Kyselina hyalurónová	Fosfolipidy
11		γ -globulín	Kyselina hyalurónová	Fosfolipidy
12	Albumín	γ -globulín	Kyselina hyalurónová	Fosfolipidy

obr. 4-5 Použité zloženia modelovej synoviálnej kvapaliny.

4.4 Postup merania a použité podmienky

Ako už bolo zmienené v kapitole 4-1, všetky experimenty budú realizované pri fyziologickej teplote 37 °C. V štúdiu[5] boli ukázané priebehy rýchlosti a zaťaženia vyskytujúce sa v bedrovom kĺbe počas chôdze. Priemerná rýchlosť vyskytujúca sa v kĺbe je 20 mm/s. Avšak s dôvodu limitujúcej maximálnej rýchlosti recipročného modulu, sú ako rýchlosti zvolené 10 mm/s a 5 mm/s. To reprezentuje pomalú a veľmi pomalú chôdzu typickú pre starších pacientov trpiacich vyšším štádiom osteoartrózy. Ako zaťaženia boli zvolené 5 N a 10 N, čo spôsobí kontaktný tlak 1 až 2 MPa.

Jedno meranie pozostáva z dvoch častí. Najprv je chrupka ponorená bez zaťaženia po dobu 5 m v mazive, kde dôjde k rehydratácii tkaniva. Následne dôjde k zaťaženiu a uvedeniu pinu do pohybu taktiež po dobu 5 m, kde prebieha odber dát. Jeden kompletný experiment pozostáva z troch takýchto meraní. Celý postup merania je možné zhrnúť do niekoľko základných krokov.

- 1) Namontovanie vaničky na podstavu tribometra
- 2) Rozmrazenie vzorky a maziva
- 3) Vloženie optického skla do vaničky
- 4) Nalatie maziva do vaničky a temperácia na požadovanú teplotu
- 5) Upnutie chrupkového pinu do pohyblivej časti tribometra
- 6) Proces merania
- 7) Vysatie maziva papierovou utierkou a odhodenie pinu
- 8) Vybratie skla z vaničky

- 9) Vyčistenie súčastí v roztoku SDS a izopropylalkohole
- 10) Odmontovanie vaničky
- 11) Analýza dát

5 VÝSLEDKY

Pomocou recipročných experimentov s použitím rozdielnych mazív bol skúmaný vplyv zložiek synoviálnej kvapaliny na trecie vlastnosti kĺbnej chrupky pri použití rozdielnych koncentrácií a zaťažovacích podmienok. Merania pozostávali z recipročného pohybu chrupkového pinu po sklenenej doske. Pred začatím experimentov bola vždy najprv zohriata nerezová komora v ktorej bolo vložené v silikónovom podklade optické sklo. Dĺžka nahriatia a stabilizácie teploty bola 45 m. Rovnako, počas toho času bol s mrazničky vybraný chrupkový pin, a pri izbovej teplote pomaly rozmrazený. Následne bol nasadený do držiaka, a pripevnený na pohyblivú časť tribometra. Následne bolo mazivo naliate do komory a nechalo sa 5 m zohriať. Meranie pozostávalo, ako je opísané v kapitole 4, s troch zaťažovacích cyklov. Dĺžka jedného bola 5 m. Medzi cyklami došlo k odľahčeniu. Chrupková časť pinu však počas toho ostala ponorená v mazive, aby došlo k spätnej rehydratácii tkaniva.

5.1 Vplyv zloženia synoviálnej kvapaliny

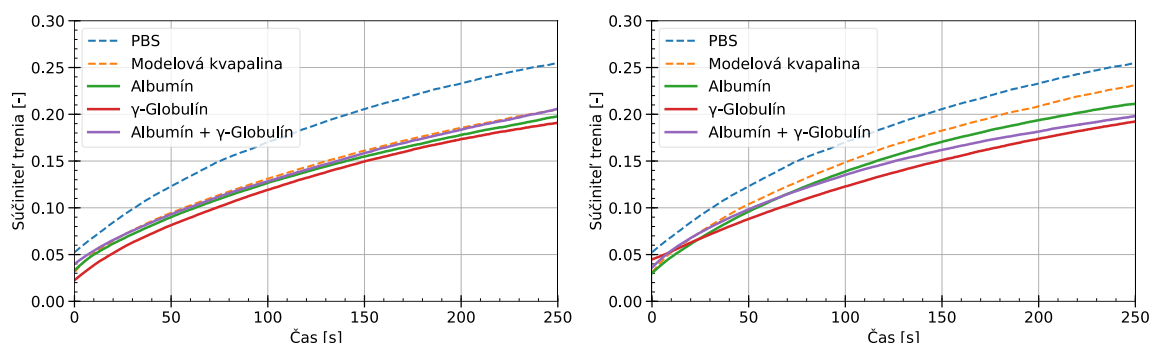
Merania boli rozdelené na štyri časti. V prvej boli v mazive použité iba proteíny, a to Albumín, γ -globulín a ich kombinácia. Následne bola k použitým proteínom pridaná HA potom fosfolipidy a nakoniec boli do proteínového základu pridané fosfolipidy a HA súčasne. Z dôvodu eliminácie šumu boli všetky dáta filtrované Savitzky-Golayovým filtrom. Použitý filter však skresľuje výsledok na koncových hodnotách, preto je vo výsledkoch zobrazených iba prvých 250 s.

5.1.1 Mazivá s čistými proteínmi

Na obrázku 5-1 je znázornená časová závislosť koeficientu trenia na čase pri použití mazív s pridaním proteínov. V grafoch je pre kontrolu vždy taktiež zobrazený výsledok merania čistého PBS a celej modelovej kvapaliny. Vľavo sú zobrazené hodnoty pre mazivá s použitím zložiek o FK (fyziologická koncentrácia), naproti tomu vpravo sú zakreslené mazivá pre koncentrácie typické pre pacientov trpiacich na osteoartrózu. Ako je vidieť na obrázku 5-1, hodnoty koeficientu trenia pre čistý PBS (modrá) dosahujú v celom rozsahu najvyšších hodnôt. Z obrázku je zároveň zrejmé, že modelová synoviálna kvapalina v grafoch zobrazená oranžovou, nedosahuje vždy najmenšie hodnoty.

Pri FK je vidieť, že hodnoty súčiniteľa trenia sú veľmi podobné, ako pre modelovú synoviálnu kvapalina počas celej dĺžky testu. Rozdiely medzi nimi sú veľmi malé a nie je možné jednoznačne posúdiť, ktoré mazivo dosahuje lepších výsledkov. V prípade

koncentrácie typickej pre pacientov trpiacich na osteoartrózou, má viditeľne modelová kvapalina horšie vlastnosti, ako pre koncentráciu fyziologickú. Avšak u mazív obsahujúce iba proteíny, nie je pozorovaná žiadna výrazná zmena súčiniteľa trenia. Všetky pozorované mazivá dosiahli menšie hodnoty ako PBS.

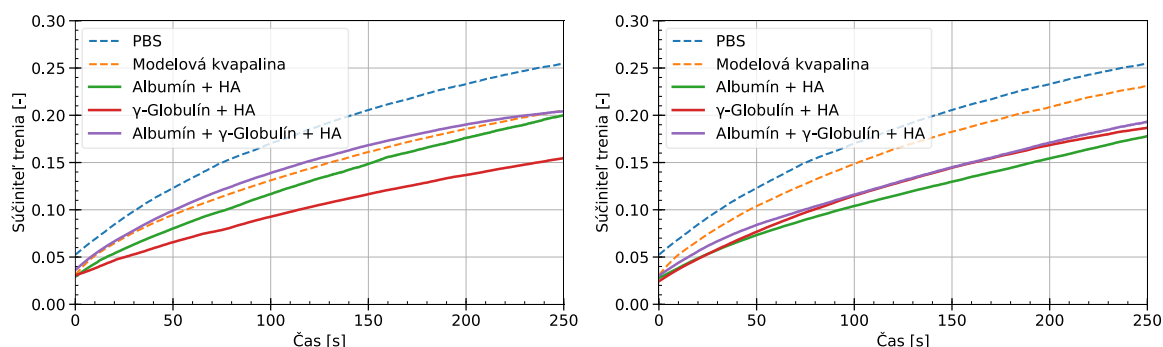


obr. 5-1 Závislosť súčiniteľa trenia na čase pri použití proteínov pre FK(vľavo) a OK(vpravo).

5.1.2 Mazivá s pridaním kyseliny hyalurónovej

Pridanie HA výrazne výsledky v porovnaní s čistými proteínmi nezmení. Všetky merania sú znázornené na obrázku 5-2, ktorý je v podobnej kompozícii ako predošlý obrázok. Rovnako je modrou zobrazený čistý PBS a oranžovou modelová kvapalina. Podobne ako v prípade čistých proteínov, všetky mazivá dosiahli lepších hodnôt, ako PBS.

V prípade FK dosiahol najmenších hodnôt trenia γ -globulín. V prípade albumínu a kombinácie proteínov však k žiadnej zmene nedošlo. Rovnako, ako pri použití čistých proteínov bez pridaní HA, dosiahli tieto mazivá podobné hodnoty ako modelová kvapalina. U OK (osteoartritická koncentrácia) dosiahli podobného výsledku. Podobne, ako v prípade čistých proteínov, dosiahli tieto mazivá menšieho trenia ako modelová kvapalina. Pri porovnaní hodnôt súčiniteľa trenia s mazivami obsahujúcimi čisté proteíny je vidieť pri pridaní HA mierny pokles trenia.

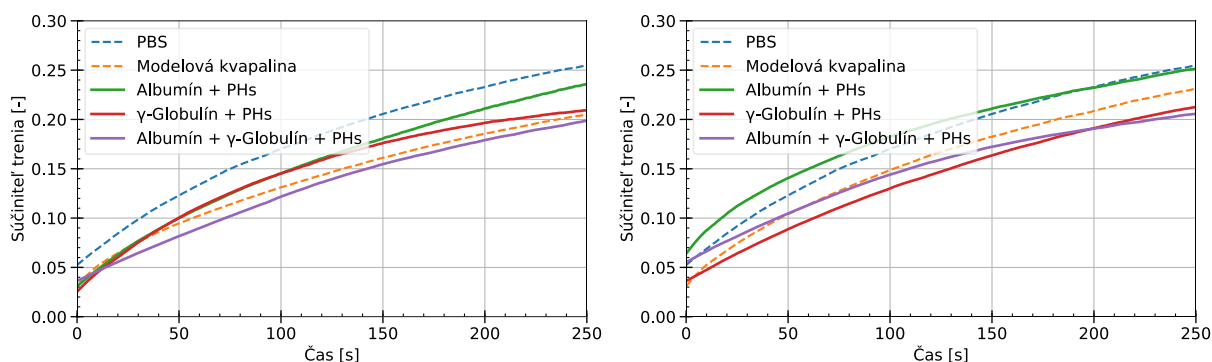


obr. 5-2 Závislosť súčiniteľa trenia na čase pri použití proteínov a HA pre FK(vľavo) a OK(vpravo).

5.1.3 Mazivá s pridaním fosfolipidov.

U FK je vidieť, že pridanie fosfolipidu nemá vo väčšine prípadov synergický účinok. Priebeh hodnôt pre mazivá s jedným proteínom je spočiatku strmší ako pre modelovú kvapalinu. V prípade γ -globulínu sa približne od 120 s nárast spomalí, a hodnota sa priblíži modelovej kvapaline. Naproti tomu v prípade albumínu nárast pokračuje počas celej doby testu, koncová hodnota je vyššia ako pre modelovú kvapalinu. V prípade kombinácie proteínov je hodnota po celú dobu podobná ako pre modelovú kvapalinu.

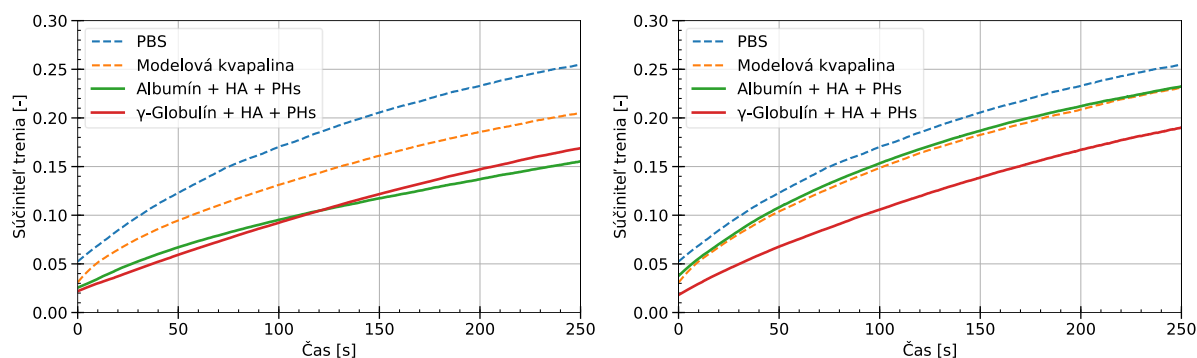
V prípade OK je vidieť podobného rozloženia hodnôt ako v prípade FK. V prípade zmesi albumínu a γ -globulínu je síce počiatková hodnota väčšia ako pre modelovú kvapalinu, no nárast trenia je menej strmý ako u modelovej kvapaliny. Postupne sa však hodnota trenia dostane pod hodnotu modelovej kvapaliny. Pre γ -globulín je hodnota po celú dobu menšia ako pre modelovú kvapalinu. Najväčších hodnôt však dosahuje mazivo s albumínom, a to dokonca podobné ako pre čistý PBS.



obr. 5-3 Závislosť súčiniteľa trenia na čase pri použití proteínov a fosfolipidov pre FK(vľavo) a OK(vpravo).

5.1.4 Mazivá s pridaním kyseliny hyalurónovej aj fosfolipidov

Z grafu (obr. 5-4) je zrejmé, že hodnota súčiniteľa trenia závisí nielen na zvolenom proteíne, ale aj na koncentráciách. V prípade FK je vidieť, že pri mazivách s jedným proteínom je trenie po celú dobu menšie ako pre mazivo s oboma proteínmi. Zároveň, po celú dobu testu majú podobnú hodnotu trenia. Naopak, pre OK dosahujú podobných hodnôt mazivá obsahujúce albumín a modelová kvapalina. Mazivo s γ -globulínom dosahuje po celú dobu testu najmenších hodnôt trenia. Avšak v porovnaní s FK, dosahujú všetky pozorované mazivá vyšších hodnôt.

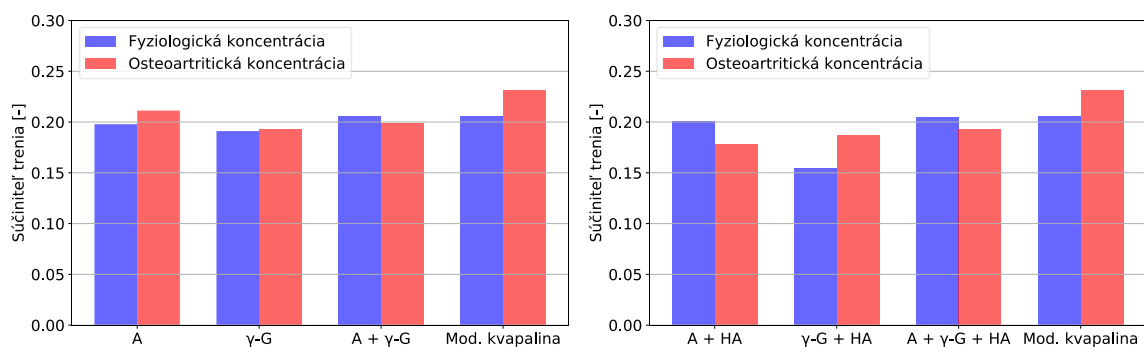


obr. 5-4 Závislosť súčiniteľa trenia na čase pri použití proteínov, HA a fosfolipidov pre FK (vľavo) a OK (vpravo).

5.2 Vplyv koncentrácie

Na obrázkoch 5-5 a 5-6 sú znázornené koncové hodnoty súčiniteľa trenia pre rýchlosť 10 mm/s a zaťaženie 5 N. S dôvodu prehľadnosti sú grafy, podobne ako v predchádzajúcej časti rozdelené na štyri časti. Na prvom obrázku sú ako prvé zobrazené čisté proteíny. Ďalej nasledujú proteíny s prídavkom HA. V druhom začínajú proteíny s prídavkom fosfolipidov, a ako posledné sú zobrazené hodnoty, kde je ku proteínom pridaná HA aj fosfolipidy. V grafe je každé mazivo zobrazené dvoma hodnotami. Prvá je koncová hodnota pre mazivo vo fyziologickej koncentrácii zobrazená v modrej farbe. Druhá v OK vo farbe červenej. U každého grafu je s dôvodu kontroly zobrazená taktiež modelová synoviálna kvapalina.

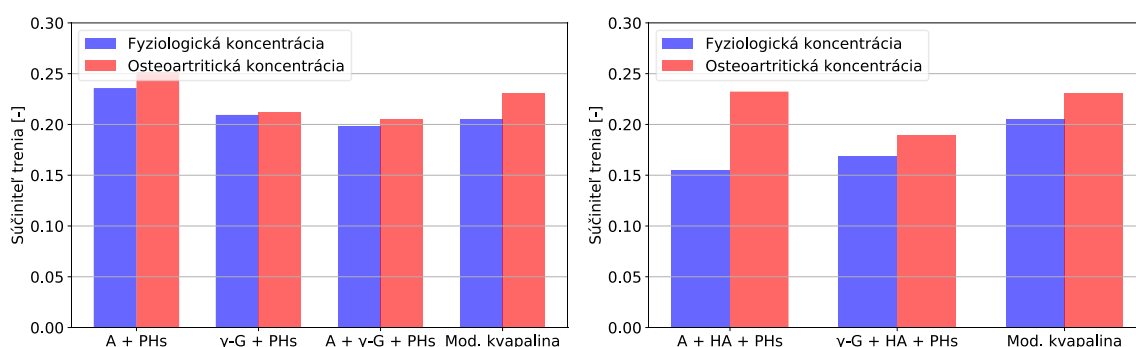
Z grafu 5-5 je zrejmé, že pri zmene koncentrácie modelovej kvapaliny na osteoartritickú, dochádza k navýšeniu hodnoty trenia. V prípade mazív obsahujúcich čisté proteíny pri zmene koncentrácie nie je pozorovaná žiadna zmena. V oboch prípadoch, aj pre albumín aj pre γ -globulín dochádza pri osteoartritíde ku navýšeniu koncentrácií.



obr. 5-5 Vplyv koncentrácie pre mazivá obsahujúce iba proteíny (vľavo) a proteíny s pridaním HA (vpravo). A - Albumín, γ -G - γ -globulín, HA - kyselina hyalurónová.

Z obrázku je zrejmé, že HA s γ -globulínom má synergický účinok. Pri FK dosahuje najmenšieho trenia spomedzi všetkých zobrazených mazív. Avšak pri zmene koncentrácie, kde dôjde k zmenšeniu koncentrácie HA, je zrejmý nárast trenia podobne ako je tomu u modelovej kvapaliny. V prípade kombinácie proteínov s HA nie je pozorovaná žiadna výrazná zmena trenia podobne ako je to bez pridania HA.

V prípade pridania fosfolipidu k proteínom (obr. 5-6), je vidieť veľmi mierny nárast pre mazivo s albumínom. Zároveň toto mazivo dosiahlo najväčších hodnôt súčiniteľa trenia. Pre obe zložky dôjde pri zmene k zvýšeniu koncentrácie, preto je zrejmé že ich kombinácia na trenie vplyva nesynergicky. Pre mazivá, kde je prítomný γ -globulín, však k žiadnej významnej zmene trenia nedochádza. Dokonca pri oboch mazivách, u čistého γ -globulínu a pri kombinácii proteínov, dosahujeme podobných hodnôt, ako je to pri fyziologickej modelovej kvapaline.

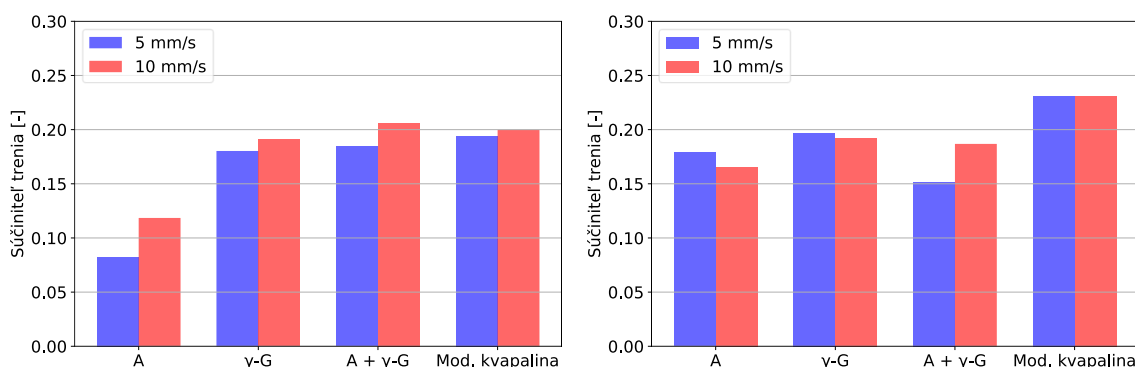


obr. 5-6 Vplyv koncentrácie pre mazivá obsahujúce proteíny s pridaním fosfolipidov (vľavo) a proteíny s pridaním HA a fosfolipidov (vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín, HA – kyselina hyalurónová, PHs - fosfolipidy.

Pre mazivá obsahujúce HA aj fosfolipidy dochádza ku najväčšej zmene so všetkých mazív pri použití iba albumínu. Pri fyziologickej koncentrácii dosahuje veľmi dobrých hodnôt, avšak pri zmene koncentrácie dochádza k výraznému navýšeniu trenia. A to až na hodnotu podobnú s osteoartritickou modelovou kvapalinou. Pre čistý γ -globulín je taktiež pozorovaný nárast trenia, avšak nie je až tak výrazný. Nárast je podobný ako pri osteoartrickej modelovej kvapaline, avšak tento nárast nastáva z nižších hodnôt.

5.3 Vplyv rýchlosti

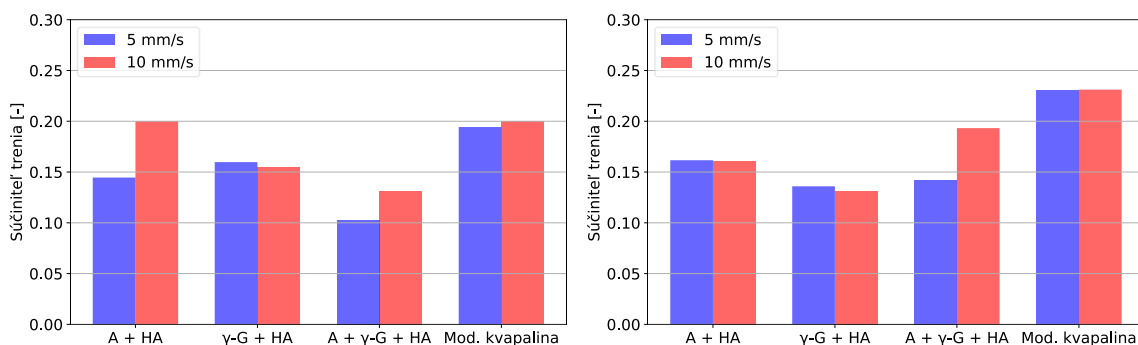
Vplyv rýchlosti na koeficiente trenia je vidieť na obrázkoch 5-7 až 5-10. Grafy majú podobnú štruktúru, ako v predchádzajúcej časti. Nemenná hodnota je teraz pre každý graf použitá koncentrácia a na osiach pozorujeme konečnú hodnotu trenia pri rozličných rýchlostiach. Vľavo sú zobrazené výsledky pre koncentráciu fyziologickú a vpravo OK zložiek v mazive. Na obrázku 5-7 je zobrazený vplyv rýchlosti pri použití mazív s čistými proteínmi.



obr. 5-7 Vplyv rýchlosti pre mazivá obsahujúce proteíny pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ-G – γ-globulín.

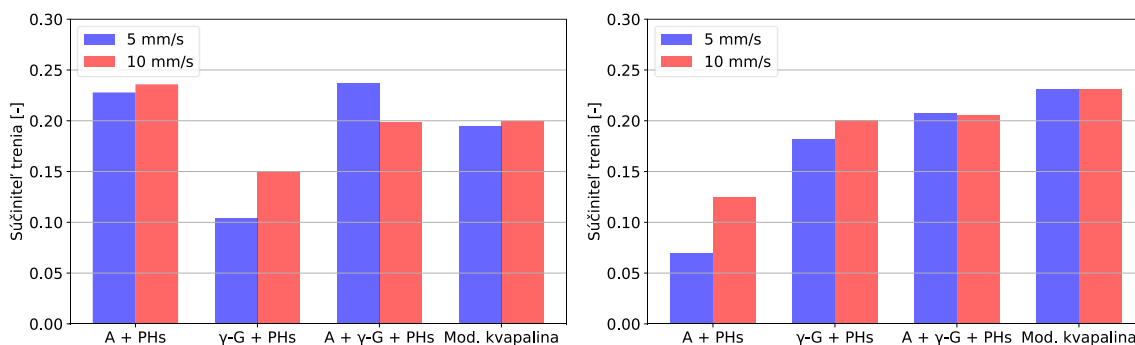
Pre modelovú kvapalinu je zrejmy veľmi nevýrazný vplyv na rýchlosti. U FK síce došlo k veľmi malému nárastu trenia, u OK však nie je pozorovaná žiadna zmena koeficientu trenia pri zmene rýchlosti. Pre samostatný albumín je viditeľná závislosť na koncentrácii. Znížením rýchlosti na 5 mm/s je u FK pozorovaný pokles trenia, avšak u koncentrácii osteoartritickej dochádza ku miernemu nárastu. Pre čistý γ-globulín nie sú pozorované významné závislosti na rýchlosti. Pre FK síce dôjde k malému zlepšeniu, ale pri koncentrácii osteoartritickej k veľmi malému zvýšeniu. V porovnaní s albumínom sú však tieto zmeny oveľa nižšie. Pri kombinácii albumínu a γ-globulínu je zmena hodnôt pri skúmaných koncentráciách podobná. Pri znížení rýchlosti nastáva v oboch prípadoch mierne zníženie koeficientu trenia.

V prípade pridania HA(obr. 5-8) k albumínu je vplyv rýchlosti veľmi podobný čistému albumínu. V prípade FK nastáva výrazný pokles so znížením rýchlosti, no pri koncentrácii osteoartritickej nie je pozorovaný žiadny vplyv rýchlosti na trenie. U čistého γ-globulínu je u oboch koncentráciách pozorovateľný veľmi malý nárast koeficientu trenia. V porovnaní s vplyvom rýchlosti na albumín je tento nárast zanedbateľný. Rovnako aj albumín s γ-globulínom má pri oboch pozorovaných koncentráciách podobný vplyv. So znížením rýchlosti nastáva výrazné zníženie súčiniteľa trenia.



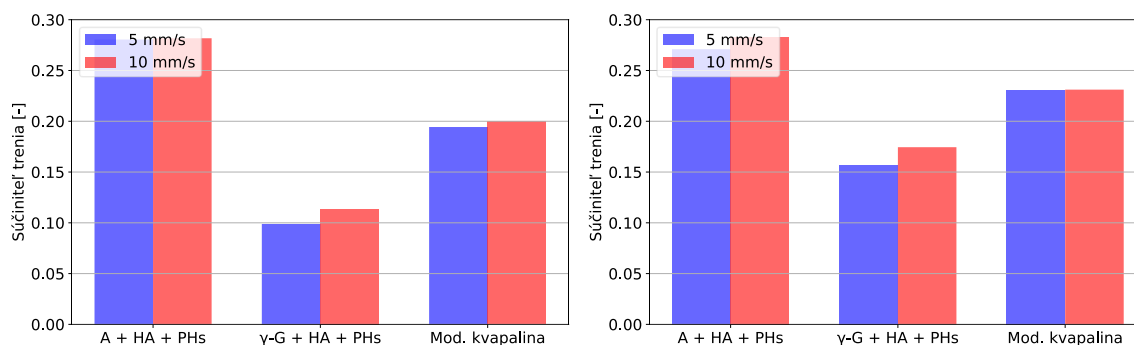
obr. 5-8 Vplyv rýchlosti pre mazivá obsahujúce proteíny a HA pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ-G – γ-globulín, HA – kyselina hyalurónová.

Po pridaní fosfolipidu(obr. 5-9) k albumínu je vplyv rýchlosti opačný, ako v predošlých prípadoch. U FK je pozorované malé zvýšenie hodnoty trenia. U OK pri menšej rýchlosti nastáva výrazné zmenšenie súčiniteľa trenia. Efekt fosfolipidu na čistý γ-globulín má zjavne opačný efekt. U FK je pozorovaný pokles trenia pri poklese rýchlosti. Pri koncentrácii osteoartritickej je taktiež pozorovaný pokles, avšak je menej výrazný. Pri kombinácii albumínu a γ-globulínu je pri FK pozorovaný nárast trenia pri zmenšení rýchlosti, avšak u koncentrácii osteoartritickej však nie je pozorovaný žiadny vplyv na zmenu rýchlosti.



obr. 5-9 Vplyv rýchlosti pre mazivá obsahujúce proteíny a fosfolipidy pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ-G – γ-globulín, PHs - fosfolipidy.

Pri pridaní HA a fosfolipidov je u γ-globulínu v oboch koncentráciách pozorovaný pokles trenia pri zmenšení rýchlosti. Avšak pri zmene rýchlosti nenastáva žiadna významná zmena súčiniteľa trenia pre modelovú kvapalinu a mazivo s albumínom.

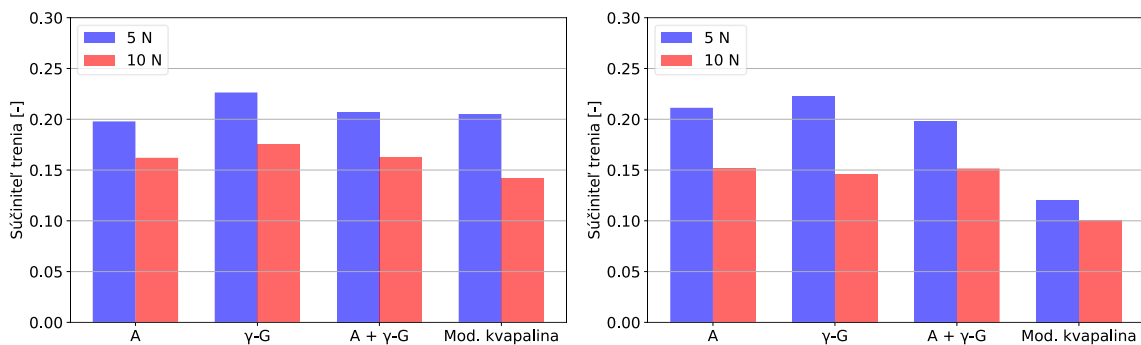


obr. 5-10 Vplyv rýchlosti pre mazivá obsahujúce proteíny a HA a fosfolipidy pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A - Albumín, γ-G – γ-globulín, HA – kyselina hyalurónová, PHs - fosfolipidy.

5.4 Vplyv zaťaženia

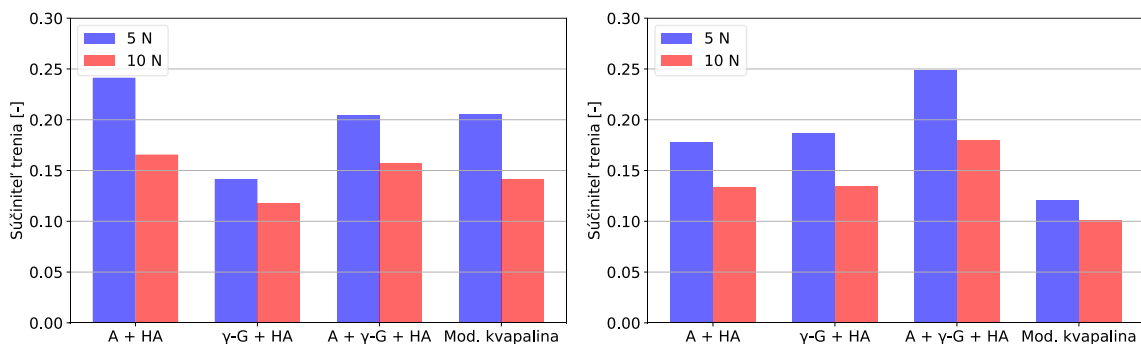
Vplyv zaťaženia na trení je znázornený na obrázkoch 5-11 až 5-14. Usporiadanie obrázkov je totožné ako v predošlej podkapitole. Vľavo sú zobrazené hodnoty trenia pre mazivá so zložkami o fyziologických koncentráciách, a vpravo o koncentráciách typických pre pacientov trpiacich osteoartrózou. Merania boli realizované pri rýchlosti 10 mm/s. Z obrázkov 5-11 – 5-14 je zrejmé, že vplyv zaťaženia na súčiniteli trenia je pre všetky pozorované mazivá aj koncentrácie rovnaký. Líšia sa navzájom iba veľkosťou zmeny. Pre všetky mazivá je pozorovaný pokles súčiniteľa trenia pri náraste zaťaženia.

Na obrázku 5-11 sú znázornené závislosti zaťaženia pre mazivá obsahujúce iba proteíny. K najväčšiemu poklesu dochádza pre obe koncentrácie pri použití γ-globulínu. Avšak u OK je tento pokles viac výraznejší. Rovnako, je pokles výraznejší pri mazive obsahujúcom iba albumín. Pre mazivo obsahujúce albumín a γ-globulín nie je pozorovaná žiadna výrazná zmena poklesu pri zmene koncentrácie. Pokles trenia pre fyziologickú modelovú kvapalinu je výrazný, avšak pri koncentrácií osteoartritickej je pozorovaný veľmi malý vplyv. Rozdiel hodnôt trenia je pre tento prípad najmenší so všetkých pozorovaných mazív.



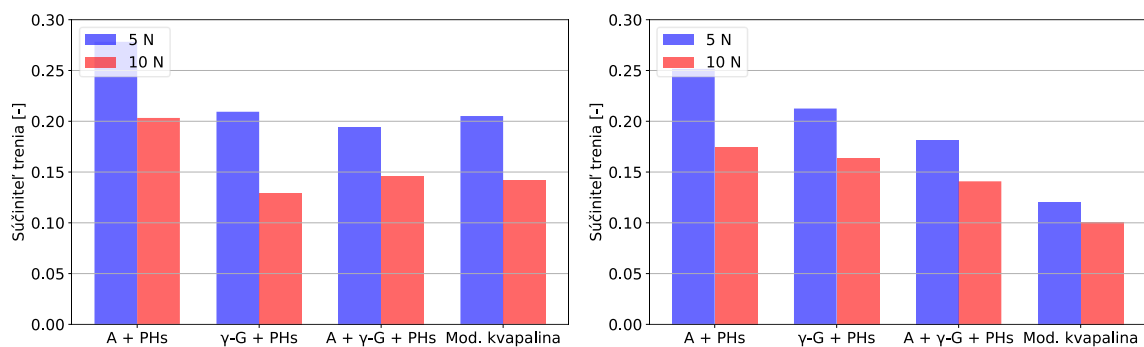
obr. 5-11 Vplyv zaťaženia pre mazivá obsahujúce proteíny pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín.

Po pridaní HA ku proteínom (obr. 5-12) dosahuje u FK mazivo s albumínom najväčšieho poklesu, naproti tomu mazivo s γ -globulínom dosiahlo malý vplyv. Pre kombináciu proteínov je pozorovaný pokles podobný ako je u modelovej kvapaliny. Pre osteoartritickú koncentráciu je najväčší pokles pozorovaný pre kombináciu proteínov a samostatné proteíny dosiahli podobného vplyvu.



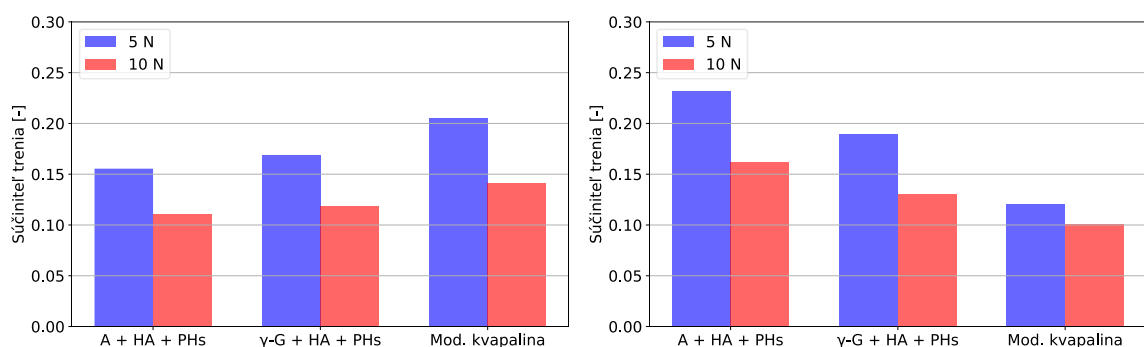
obr. 5-12 Vplyv zaťaženia pre mazivá obsahujúce proteíny a HA pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín, HA – kyselina hyalurónová.

Na obrázku 5-13 sú znázornené vplyvy zaťaženia pre mazivá s prídavkom fosfolipidov. U FK nastáva najväčší pokles trenia pre mazivá s jedným proteínom. Pre kombináciu proteínov je pokles trochu menší, ako pre modelovú kvapalinu. Naproti tomu, u OK je viditeľne najväčší pokles pre mazivo s albumínom. Nasleduje mazivo s γ -globulínom a kombinácia proteínov. Ich pokles je podobný, avšak viac výraznejší ako pre osteoartritickú modelovú kvapalinu.



obr. 5-13 Vplyv zaťaženia pre mazivá obsahujúce proteíny a fosfolipidy pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A - Albumín, γ-G – γ-globulín, PHs - fosfolipidy.

Vplyv zaťaženia pri pridaní HA a fosfolipidov je zobrazený na obrázku 5-14. Najväčší pokles pre FK mazív je pre modelovú kvapalinu. Naproti tomu pre kvapalinu osteoartritickú je pokles spomedzi analyzovaných mazív najmenší. Pokles trenia pre mazivá s jedným proteínom je pre FK podobný. Podobne aj pre koncentráciu osteoartritickú, avšak pokles je v prípade tejto koncentrácie je viac výrazný ako v prípade koncentrácie fyziologickej.



obr. 5-14 Vplyv zaťaženia pre mazivá obsahujúce HA, fosfolipidy a proteíny pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A - Albumín, γ-G – γ-globulín, HA – kyselina hyalurónová, PHs - fosfolipidy.

6 DISKUSIA

6.1 Vplyv zloženia a koncentrácie

Z výsledkov je zrejmé, že hodnota súčiniteľa trenia závisí ako na použitom zložení, tak aj zvolenej koncentrácii mazív. V prípade mazív s čistými proteínmi nie je pozorovaný žiadny výrazný vplyv na koncentracii alebo použitom zložení. Každé mazivo dosiahlo približne hodnôt súčiniteľa trenia 0,2, a ostatné mazivá je tak vhodné porovnávať s touto hodnotou. V literatúre nie je samostatným proteínom venovaná až taká veľká pozornosť, ako je to v prípade HA alebo fosfolipidov. Skupina okolo Serora ako je ukázané v článkoch [24, 25], používa ako proteín avidín, čo je proteín extrahovaný z vajecného bielka. Murakami v štúdiách [20–23] prevažne skúmal vlastnosti hydrogélu, alebo používal zložky v rozdielnych koncentráciách. V porovnaní s výsledkami v tejto práci sa však jedná o koncentrácie rádovo nižšie. U proteínov je to 0,7 mg/ml pre každý proteín. Avšak v tejto práci sú použité rozdielne koncentrácie proteínov. Množstvo každej zložky bolo volené tak, aby lepšie reprezentovalo skutočné koncentrácie vyskytujúce sa v ľudskom tele.

Pri použití malých koncentracii bol pozorovaný rozdiel v mazacích vlastnostiach proteínov, ako je to ukázané v štúdii [20]. Avšak pri použití omnoho väčšieho množstva proteínov ako je to v tejto práci nebol preukázaný žiadny rozdiel v mazacích vlastnostiach proteínov. Proteíny sa adsorbujú na povrchu chrupky a vytvoria medzný mazací film. Keďže mazacia schopnosť podľa obrázku 5-1 nezávisí ani na koncentrácii a ani použitom proteíne, je tak v mazive viac ako dostatočné množstvo proteínov na vytvorenie mazacieho filmu a mazacia schopnosť tejto vrstvy je pre obe proteíny rovnaká. Ostatné proteíny ktoré sa nepodieľajú na mazacom filme nemajú na trenie žiadny vplyv.

Keďže v práci boli použité len mazivá s prítomnosťou proteínov, porovnanie je tak možné iba s prácou Murakamiho [20], ktorý v práci pracoval s totožným zložkami modelovej synoviálnej kvapaliny. Z obrázku 4-5 je vidieť že zmena koncentrácie nie je rovnomerná pre každú zvolenú zložku, a je tak vhodné vzťahovať zmenu koncentrácie HA a fosfolipidov ku koncentrácii použitého proteínu v mazive. Pre OK je tak množstvo HA vzhľadom k albumínu na úrovni 48 % a v prípade γ -globulínu len na 35 % z toho, koľko je tam pri koncentrácii fyziologickej. Práve pre mazivo s γ -globulínom je na obrázku 5-2 vidieť značný nárast trenia pri poklese koncentrácie HA. Je tak zjavný synergický účinok týchto zložiek. U maziva s albumínom a kombinácii proteínov je však pri väčšej koncentrácii proteínov pozorované väčšie trenie. HA tak zrejme záporne vplýva na adsorpciu albumínu na povrch chrupky.

Koncentrácia fosfolipidu je u OK väčšia približne 2x. Rovnako je tomu tak u γ -globulínu. Vzájomný pomer týchto je tak podobný. Na obrázku 5-3 nie je pozorovaná žiadna zmena

koeficientu trenia pre mazivá obsahujúce γ -globulín, ako aj kombináciu proteínov. Pritom hodnota trenia je podobná ako je to pri použití čistých proteínov bez fosfolipidov. Koncentrácia albumínu je síce väčšia v osteoartritickej modelovej kvapaline, avšak nárast je iba 20 %. Avšak u maziva s albumínom bol nameraná vyššia hodnota súčiniteľa trenia, pre OK dokonca podobná, ako pre PBS. V štúdií [23] bolo ukázané, že nemusí vždy pri fosfolipidoch dôjsť k zníženiu trenia ako je to v štúdií [15], a že trenie závisí od koncentrácie a použitého proteínu. Z obrázku 5-3 je tak zrejmé že kombinácia albumínu a fosfolipidov v koncentrácii fyziologickej, či osteoartritickej, netvorí dobré medzné mazivo.

V prípade kombinácie HA a fosfolipidov je zrejmé z obrázku 5-4, že každé mazivo má u OK horšie trecie vlastnosti. Ďalej je vidieť, že pri použití jedného proteínu, bolo dosiahnuté lepšie trenie pri FK. Pri koncentrácii osteoartritickej najlepšie trenie dosiahlo mazivo s γ -globulínom, a mazivo kde je prítomný albumín dosahuje podobné trenie, ako modelová kvapalina. V štúdií [20] Murakami nameral práve najmenšie hodnoty trenia pri kombinácií všetkých zložiek kvapaliny. Je preto pravdepodobné, že podobne, ako je tomu u fosfolipidov, je trenie veľmi závislé od koncentrácie a zvoleného proteínového jadra.

6.2 Vplyv rýchlosti a zaťaženia

Z výsledkov závislosti na rýchlosti je veľmi zaujímavá podobnosť medzi mazivami, kde sú prítomné samostatné proteíny, a kde je k proteínu pridaná HA. Veľkosť zmeny je u maziva s γ -globulínom nevýrazná, rovnako je tomu tak u modelovej kvapaliny. Avšak z obrázkov 5-7 a 5-8 je zrejmé, že u mazív obsahujúce albumín je veľkosť vplyvu rýchlosti závislá od koncentrácie. Vplyv rýchlosti bol skúmaný v štúdií [10]. Autori tam zistili, že vplyv rýchlosti soľného roztoku závisí na koncentrácii soľných iónov. Podobná závislosť je pozorovaná pri mazive obsahujúcom albumín, a to aj v prípade pridania HA. Pri menšej koncentrácii, to je pre albumín koncentrácia fyziologická, je pri zväčšení rýchlosti pozorovaný nárast trenia. Naproti tomu, ak je koncentrácia albumínu zvýšená na osteoartritickú, hodnotovo je to nárast o 20 %, pozoruje sa podobne ako na obrázku 2-4 mierny pokles trenia. Je tak pravdepodobné že adsorbovaná proteínová vrstva a HA nemá žiadny vplyv na rýchlosť, a celý efekt je tak spôsobený prítomným nábojom albumínu.

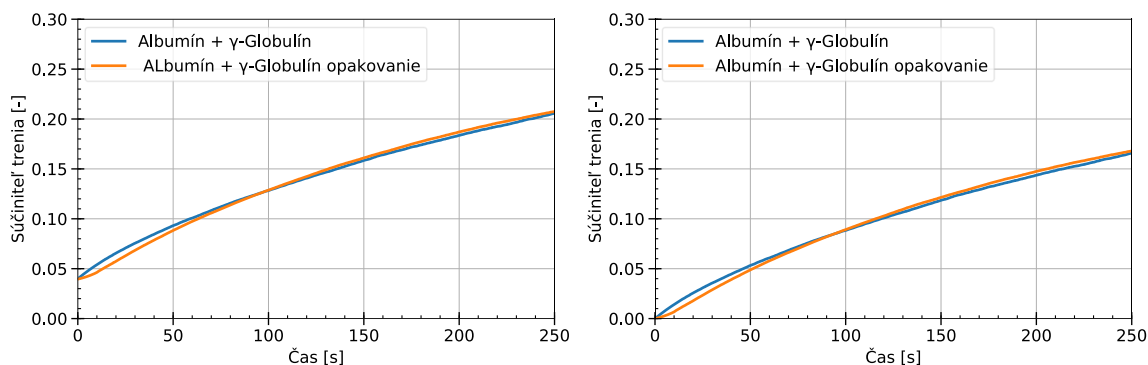
Ak sa však pridajú ešte ku HA fosfolipidy, nie je pozorovaný žiadny významný vplyv pri zmene rýchlosti. Fosfolipidy sú taktiež nabité molekuly, avšak mazanie je uskutočnené iným mechanizmom, ako je tomu a čistých proteínov, a alebo pri pridaní HA. Avšak pri pridaní iba fosfolipidov ku albumínu je pozorované obrátenie efektu. Kde, pri FK je pozorovaný veľmi nevýrazný efekt, a v prípade OK je zrejmý nárast trenia s rýchlosťou. Vplyv tak výrazne závisí na tom aké proteíny sú použité a aká je použitá koncentrácia, podobne ako je to mu tak v prípade vplyvu zloženia a koncentrácie.

S narastajúcim zaťažením klesá hodnota súčiniteľa trenia pre všetky mazivá. Vplyv zaťaženia vysvetľuje Katta v štúdií [32]. Pri zaťažení je kvapalina pomaly odtlačovaná do miesta, kde chrupka nie je zaťažená. Porézna štruktúra chrupky však vytlačovaniu kvapaliny bráni, a vzniká tak odporová sila. Pomocou nej je prenášané zaťaženie. Väčšie zaťaženie spôsobí väčšiu silu a tým aj prenos väčšieho podielu zaťaženia kvapalinou. To sa odzrkadlí menšími hodnotami trenia. Pokles, je teda spôsobený štruktúrou chrupky, a nie vlastnosťami maziva. Vytvorený medzný mazací film tak ovplyvňuje iba veľkosť poklesu trenia. Je však možné predpokladať, že veľkosť poklesu súčiniteľa trenia môže súvisieť s hrúbkou a priepustnosťou mazacieho filmu.

6.3 Opakovateľnosť a príprava vzoriek

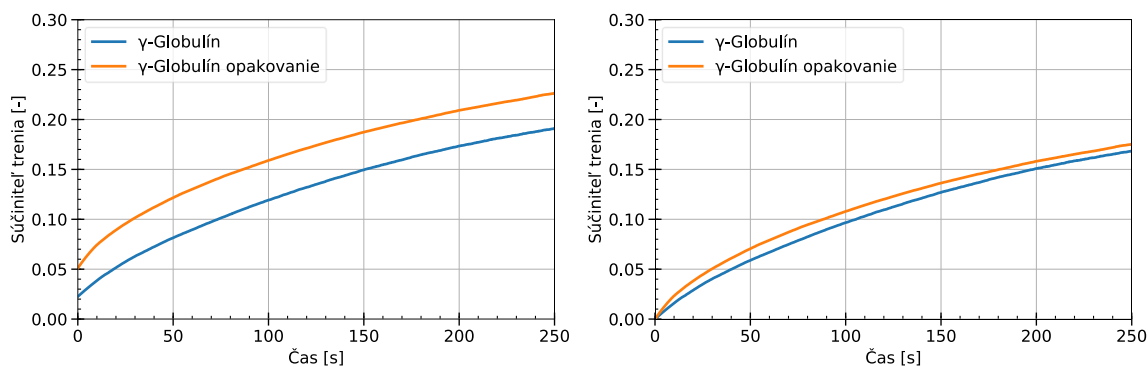
Kĺbna chrupka je biologický materiál a to nesie so sebou pre opakovateľnosť množstvo nevýhod. Na mechanické vlastnosti, tak môžu mať dosah neovplyvniteľné parametre. Použité krmivo, dĺžka života, pohlavie jedinca, atď. Jedná sa o rôzne vplyvy na štruktúru a vlastnosti chrupky počas života jedinca. Ďalej, tak aj čiastočne ovplyvniteľné parametre. Jedná sa o parametre, ktoré môžu ovplyvniť mechanické vlastnosti po porážke jedinca. Je to primárne čas od porážky do zmrazenia vzoriek. To je vidieť v kapitole 4 na obrázku 4-4, kde sú znázornené časové závislosti trenia pre rôzne doby a teploty uskladnenia. Z obrázku je zrejmé, že pri skladovaní v chladničke do 48 h. narastie síce počiatočná hodnota trenia, avšak od 50 s je graf totožný s čerstvou chrupkou, a koncové hodnoty sú tak porovnateľné. Ďalej môže ovplyvniť vlastnosti aj poškodenie pri extrakcii kostí.

Podľa testov opakovateľností je možné výsledky rozdeliť do troch kategórií. Výsledky s dobrou opakovateľnosťou, výsledky s posunutou krivkou vplyvom skladovania a výsledky so zlou opakovateľnosťou. Ako príklad dobrej opakovateľnosti je zobrazená opakovateľnosť maziva obsahujúce kombináciu proteínov vo FK. Je zrejmé, že krivka má podobný tvar a začína na rovnakej počiatočnej hodnote. Väčšina meraní má počiatočnú hodnotu v rozmedzí 0,03 až 0,04.



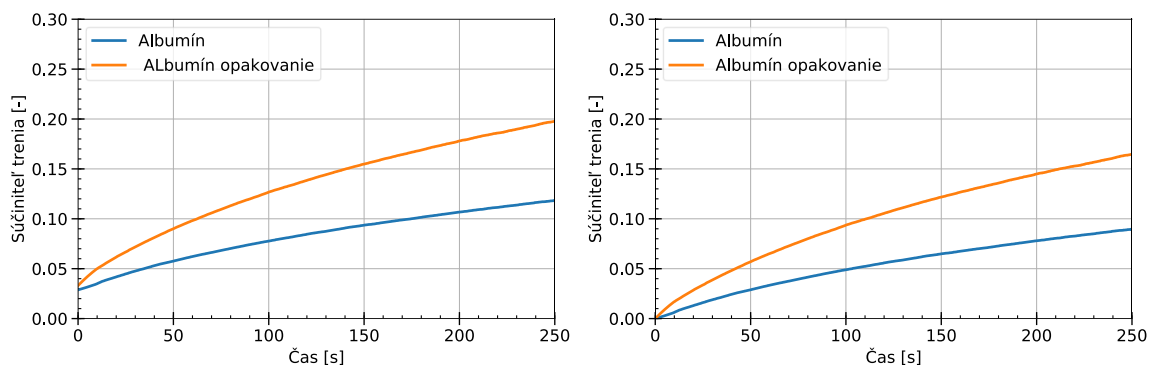
obr. 6-1 Opakovateľnosť maziva obsahujúceho albumín a γ -globulín. Namerané hodnoty(vľavo) a hodnoty vzťahnuté k počiatku(vpravo).

Vpravo na tom istom obrázku je zobrazená tá istá opakovateľnosť, kde je počiatok každej krivky položený do nulového bodu. Na obrázku 6-2 je totožným spôsobom znázornená opakovateľnosť γ -globulínu taktiež vo FK. Z obrázku vpravo je zrejmé, že tvar krivky je podobný a rozdiel v počiatkovej hodnote je pravdepodobne spôsobený dlhším skladovaním kostí v chladiarenskom boxe.



obr. 6-2 Opakovateľnosť γ -globulínu. Namerané hodnoty(vľavo) a hodnoty vzťahnuté k počiatku(vpravo).

V týchto prípadoch je však stále opakovateľnosť dobrá, keďže na základe toho akú má krivka počiatkovú hodnotu, je možné určiť reprezentatívnejší výsledok. Stále, však sa u niektorých meraní prejavila zlá opakovateľnosť vzoriek. Ako je vidieť na obrázku 6-3, počiatková hodnota je zhodná. Avšak pri porovnaní priebehu kriviek a ich koncovú hodnotu, je zrejmé, že bez ďalšieho opakovania nie je úplne možné určiť vhodnú reprezentatívnu krivku, ako v druhom príklade.



obr. 6-3 Opakovateľnosť albumínu. Namerané hodnoty(vľavo) a hodnoty vzťahnuté k počiatku(vpravo).

7 ZÁVER

V tejto diplomovej práci bol skúmaný vplyv zložiek modelovej synoviálnej kvapaliny na trecie vlastnosti kĺbnej chrupky. Bola navrhnutá metodika extrakcie a uskladnenia chrupkových vzoriek, a taktiež bol experimentálne overený vplyv teploty uchovávania vzoriek na tribologické vlastnosti. Následne bola realizovaná séria experimentálnych meraní s cieľom popísať vplyv použitej koncentrácie zložiek synoviálnej kvapaliny, pričom boli vybrané koncentrácie aké sa vyskytujú v zdravej synoviálnej kvapaline a koncentrácie typické pre ľudí trpiacich osteoartrózou. Merania boli realizované vo dvoch rýchlostných a zaťažovacích konfiguráciách. Všetky parametre boli volené tak, aby lepšie reprezentovali skutočné podmienky vyskytujúce sa v ľudskom kĺbe.

Najdôležitejšie výsledky je možné zhrnúť do niekoľko bodov:

- Pri použití mazív obsahujúcich iba proteíny nie je pozorovaný žiadny rozdiel v hodnotách súčiniteľa trenia, a nie je taktiež pozorovaný vplyv koncentrácie.
- Pridanie HA má synergický účinok s γ -globulínom, avšak v prípade mazív obsahujúce albumín je účinok opačný.
- Po pridaní fosfolipidov nie je v mazivách obsahujúcich γ -globulín pozorovaný žiadny výrazný vplyv, avšak podobne ako u pridaní HA, je u mazivách obsahujúcich albumín pozorované zvýšenie trenia.
- Pri zmene koncentrácie je u mazív obsahujúcich albumín, HA a fosfolipidy pozorovaný výrazný nárast trenia. Pridanie γ -globulínu do maziva však nárast zmierni, rovnako ako v prípade použitia iba γ -globulínu.
- Pri zmene zaťaženia nie je pozorovaný žiadny významný vplyv na zložení alebo koncentracii mazív.
- Pridanie HA k proteínom nezmení vplyv rýchlosti na trenie oproti mazivám obsahujúcim iba proteíny.

Keďže sa práca zaoberá iba vplyvom na súčiniteľ trenia, je potrebné ešte k pochopeniu tribologických procesov v kĺbe dôkladne pochopiť procesy a mechanizmy a spojené s mazaním. Všetky parametre a procesy vplývajúce na opotrebenie zatiaľ taktiež nie sú objasnené. Je preto potreba v ďalších štúdiách sústrediť práve na opis mazania a opotrebenia, a objasniť možné súvislosti.

8 ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

- [1] SOPHIA FOX, Alice J., Asheesh BEDI a Scott A. RODEO. The basic science of articular cartilage: Structure, composition, and function. *Sports Health*. 2009, roč. 1, č. 6, s. 461–468. ISSN 19417381.
- [2] *Funkce buněk a lidského těla*. Dostupné z: <http://fbt.cz/>
- [3] *Australian Institute of Health and Welfare*. Dostupné z: <https://www.aihw.gov.au/>
- [4] LEES, Deborah a Paul PARTINGTON. Articular cartilage. *Orthopaedics and Trauma*. 2016, roč. 30, č. 3, s. 265–272. ISSN 18771335.
- [5] FAN, J., C. W. MYANT, R. UNDERWOOD, P. M. CANN a A. HART. Inlet protein aggregation: A new mechanism for lubricating film formation with model synovial fluids. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. 2011, roč. 225, č. 7, s. 696–709. ISSN 09544119.
- [6] FORSTER, H a J FISHER. The Influence of Loading Time and Lubricant on the Friction of Articular Cartilage. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. 1996, roč. 210, č. 2, s. 109–119. ISSN 0954-4119.
- [7] SAKAI, Nobuo, Yuichiro HAGIHARA, Tsukasa FURUSAWA, Natsuko HOSODA, Yoshinori SAWAE a Teruo MURAKAMI. Analysis of biphasic lubrication of articular cartilage loaded by cylindrical indenter. *Tribology International*. 2012, roč. 46, č. 1, s. 225–236. ISSN 0301679X.
- [8] BONNEVIE, E. D., V. J. BARO, L. WANG a David L. BURRIS. In Situ Studies of Cartilage Microtribology: Roles of Speed and Contact Area. *Tribology Letters*. 2011, roč. 41, č. 1, s. 83–95. ISSN 1023-8883.
- [9] CALIGARIS, M. a G. A. ATESHIAN. Effects of sustained interstitial fluid pressurization under migrating contact area, and boundary lubrication by synovial fluid, on cartilage friction. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2008, roč. 16, č. 10, s. 1220–1227. ISSN 10634584.
- [10] KIENLE, Sandra, Kathrin BOETTCHER, Lorenz WIEGLEB, Joanna URBAN, Rainer BURGKART, Oliver LIELEG a Thorsten HUGEL. Comparison of friction and wear of articular cartilage on different length scales. *Journal of Biomechanics*. 2015, roč. 48, č. 12, s. 3052–3058. ISSN 00219290.
- [11] NAKA, Marco Hiroshi, Koji HATTORI, Tetsuo OHASHI a Ken IKEUCHI. Evaluation of the effect of collagen network degradation on the frictional characteristics of articular cartilage using a simultaneous analysis of the contact condition. *Clinical Biomechanics*. 2005, roč. 20, č. 10, s. 1111–1118. ISSN 02680033.
- [12] MOW, V C, S C KUEI, W M LAI a C G ARMSTRONG. Biphasic Creep and Stress Relaxation of Articular Cartilage in Compression: Theory and Experiments. *Journal of Biomechanical Engineering*. 1980, roč. 102, č. 1, s. 73–84. ISSN 0148-0731.
- [13] JAHN, Sabrina, Jasmine SEROR a Jacob KLEIN. Lubrication of Articular Cartilage. *Annual Review of Biomedical Engineering*. 2016, roč. 18, č. 1, s. 235–258. ISSN 1523-9829.

- [14] DESROCHERS, Jane, Matthias W. AMREIN a John R. MATYAS. Microscale surface friction of articular cartilage in early osteoarthritis. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2013, roč. 25, s. 11–22. ISSN 17516161.
- [15] FORSEY, Richard W., John FISHER, Jonathan THOMPSON, Martin H. STONE, Coral BELL a Eileen INGHAM. The effect of hyaluronic acid and phospholipid based lubricants on friction within a human cartilage damage model. *Biomaterials*. 2006, roč. 27, č. 26, s. 4581–4590. ISSN 01429612.
- [16] BELL, C. J., E. INGHAM a J. FISHER. Influence of hyaluronic acid on the time-dependent friction response of articular cartilage under different conditions. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. 2005, roč. 220, č. 1, s. 23–31. ISSN 20413033.
- [17] LUDWIG, Taryn E., Miles M. HUNTER a Tannin A. SCHMIDT. Cartilage boundary lubrication synergism is mediated by hyaluronan concentration and PRG4 concentration and structure. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2015, roč. 16, č. 1, s. 1–10. ISSN 14712474.
- [18] JAY, Gregory D., Jahn R. TORRES, David K. RHEE, Heikki J. HELMINEN, Mika M. HYTINEN, Chung Ja CHA, Khaled ELSAID, Kyung Suk KIM, Yajun CUI a Matthew L. WARMAN. Association between friction and wear in diarthrodial joints lacking lubricin. *Arthritis and Rheumatism*. 2007, roč. 56, č. 11, s. 3662–3669. ISSN 00043591.
- [19] PICKARD, J. E., J. FISHER, E. INGHAM a J. EGAN. Investigation into the effects of proteins and lipids on the frictional properties of articular cartilage. *Biomaterials*. 1998, roč. 19, č. 19, s. 1807–1812. ISSN 01429612.
- [20] MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Kazuhiro NAKASHIMA, Yoshinori SAWAE a Nobuo SAKAI. Influence of synovia constituents on tribological behaviors of articular cartilage. *Friction*. 2013, roč. 1, č. 2, s. 150–162. ISSN 22237704.
- [21] MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Kazuhiro NAKASHIMA, Tetsuo YAMAGUCHI, Yoshinori SAWAE, Nobuo SAKAI a Atsushi SUZUKI. Superior lubricity in articular cartilage and artificial hydrogel cartilage. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology*. 2014, roč. 228, č. 10, s. 1099–1111. ISSN 2041305X.
- [22] NAKASHIMA, K., Y. SAWAE a T. MURAKAMI. Influence of protein conformation on frictional properties of poly (vinyl alcohol) hydrogel for artificial cartilage. *Tribology Letters*. 2007, roč. 26, č. 2, s. 145–151. ISSN 10238883.
- [23] YARIMITSU, Seido, Kazuhiro NAKASHIMA, Yoshinori SAWAE a Teruo MURAKAMI. Influence of phospholipid and protein constituents on tribological properties of artificial hydrogel cartilage material. *Journal of Biomechanical Science and Engineering*. 2013, roč. 8, č. 3, s. 257–267. ISSN 18809863.
- [24] SEROR, Jasmine, Yulia MERKHER, Nir KAMPF, Lisa COLLINSON, Anthony J. DAY, Alice MAROUDAS a Jacob KLEIN. Articular cartilage proteoglycans as boundary lubricants: Structure and frictional interaction of surface-attached hyaluronan and hyaluronan-aggreacan complexes. *Biomacromolecules*. 2011, roč. 12, č. 10, s. 3432–3443. ISSN 15257797.
- [25] ZHU, Linyi, Jasmine SEROR, Anthony J. DAY, Nir KAMPF a Jacob KLEIN. Ultra-low friction between boundary layers of hyaluronan-phosphatidylcholine complexes.

Acta Biomaterialia. 2017, roč. 59, s. 283–292. ISSN 18787568.

- [26] ATESHIAN, Gerard A., Michael A. SOLTZ, Robert L. MAUCK, Ines M. BASALO, Clark T. HUNG a W. MICHAEL LAI. The Role of Osmotic Pressure and Tension-Compression Nonlinearity in the Frictional Response of Articular Cartilage. *Transport in Porous Media*. 2003, roč. 50, č. 1/2, s. 5–33. ISSN 01693913.
- [27] HILLS, B. A. a B. D. BUTTLER. Surfactants identified in synovial fluid and their ability to act as boundary lubricants. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1984, roč. 43, č. 4, s. 641–648. ISSN 00034967.
- [28] SCHMIDT, Tannin A., Nicholas S. GASTELUM, Quynhhoa T. NGUYEN, Barbara L. SCHUMACHER a Robert L. SAH. Boundary lubrication of articular cartilage: Role of synovial fluid constituents. *Arthritis & Rheumatism*. 2007, roč. 56, č. 3, s. 882–891. ISSN 00043591.
- [29] KATTA, Jayanth, Zhongmin JIN, Eileen INGHAM a John FISHER. Biotribology of articular cartilage—A review of the recent advances. *Medical Engineering & Physics*. 2008, roč. 30, č. 10, s. 1349–1363. ISSN 13504533.
- [30] SZARKO, Matthew, Ken MULDREW a John E A BERTRAM. Freeze-thaw treatment effects on the dynamic mechanical properties of articular cartilage. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2010, roč. 11, č. 1, s. 231. ISSN 1471-2474.
- [31] GALANDÁKOVÁ, Adéla, Jitka ULRICHOVÁ, Kateřina LANGOVÁ, Adéla HANÁKOVÁ, Martin VRBKA, Martin HARTL a Jiri GALLO. Characteristics of synovial fluid required for optimization of lubrication fluid for biotribological experiments. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*. 2017, roč. 105, č. 6, s. 1422–1431. ISSN 15524981.
- [32] KATTA, J., S. S. PAWASKAR, Z. M. JIN, E. INGHAM a J. FISHER. Effect of load variation on the friction properties of articular cartilage. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology*. 2007, roč. 221, č. 3, s. 175–181. ISSN 1350-6501.

9 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

PBS	Fosfátový pufer
HA	Kyselina hyalurónová
FK	Fyziologická koncentrácia
OK	Osteoartritická koncentrácia
PVA	Polyvinylalkohol
PHs	Fosfolipidy

10 ZOZNAM OBRÁZKOV A GRAFOV

obr. 1-1	Počet pacientov v závislosti na veku a pohlaví [3].	17
obr. 2-1	Kinematické podmienky bedrového kĺbu pri chôdzi na rovine [5].	19
obr. 2-2	Koeficient trenia v závislosti na čase pri použití rozdielnych mazív [6].	20
obr. 2-3	Závislosť reakčnej sily na čase [7].	21
obr. 2-4	Závislosť koeficientu trenia, normálovej sily, hĺbky penetrácie a efektívneho modulu pružnosti na rýchlosti posuvu [8].	22
obr. 2-5	Závislosť koeficientu trenia na posuvovej rýchlosti pri rôznych polomeroch sond [8].	23
obr. 2-6	Závislosť koeficientu trenia na čase pre stálom (SCA) a migrujúcom (MCA) mieste kontaktu [9].	24
obr. 2-7	Závislosť koeficientu trenia na Pecletovom čísle pri migrujúcom mieste kontaktu [9].	24
obr. 2-8	Závislosť koeficientu trenia na čase pre rôzne druhy maziva. Očistená voda (tmavo modrá), roztok 0,154 M NaCl (svetlo modrá), roztok 2M NaCl (hnedá) a synoviálna kvapalina (červená) [10].	25
obr. 2-9	Závislosť koeficientu trenia na rýchlosti pre rôzne druhy maziva. Očistená voda (tmavo modrá), roztok 0,154 M NaCl (svetlo modrá), roztok 2M NaCl (hnedá) a synoviálna kvapalina (červená) [10].	26
obr. 2-10	Vplyv degenerácie kolagénu na koeficient trenia [11].	27
obr. 2-11	Závislosť koeficientu trenia na normálovej sile pre kontrolnú (□) chrupku a pre chrupku s osteoartritídou (■) [14].	28
obr. 2-12	Zmenšenie koeficientu trenia v porovnaní HA (čierna) a Ringerovho roztoku (biela) pre jednotlivé vzorky [15].	29
obr. 2-13	Zmenšenie koeficientu trenia v porovnaní fosfolipidu (čierna) a Ringerovho roztoku (biela) pre jednotlivé vzorky [15].	29
obr. 2-14	Závislosť koeficientu trenia na čase pre statické zaťažovanie [16].	30
obr. 2-15	Závislosť koeficientu trenia na čase pre rôzne koncentrácie kyseliny hyaluróvej [17].	31
obr. 2-16	Veľkosť koeficientu trenia pre normálnu chrupku (vľavo) a s deficienciou na lubricín (vpravo) [18].	32

obr. 2-17	Závislosť koeficientu trenia na čase pre rôzne poškodené chrupky pri 4 MPa zaťažení [19].	33
obr. 2-18	Závislosť koeficientu trenia na čase pre rôzne poškodené chrupky pri 0,5 MPa zaťažení [19].	34
obr. 2-19	Tabuľka použitých mazív, a koncentrácií [20].	34
obr. 2-20	Závislosť zložiek na trení pre neporušenú chrupku [20].	35
obr. 2-21	Závislosť koeficientu trenia pre vybrané mazivá [20].	35
obr. 2-22	Závislosť koeficientu trenia na prejdenej dráhe [21].	36
obr. 2-23	Závislosť koeficientu trenia na klznej dráhe pre rôzne vrstvy proteínového filmu [22].	37
obr. 2-24	Vplyv koeficientu trenia na fosfolipide (DPPC) a proteínov [23].	38
obr. 4-1	Experimentálne zariadenie(Bruker TriboLab)	43
obr. 4-2	Schéma experimentálneho uzla.	44
obr. 4-3	Chrupkový pin.	44
obr. 4-4	Vplyv teploty uskladnenia vzoriek.	45
obr. 4-5	Použité zloženia modelovej synoviálnej kvapaliny.	46
obr. 5-1	Závislosť súčiniteľa trenia na čase pri použití proteínov pre FK(vľavo) a OK(vpravo).	49
obr. 5-2	Závislosť súčiniteľa trenia na čase pri použití proteínov a HA pre FK(vľavo) a OK(vpravo).	49
obr. 5-3	Závislosť súčiniteľa trenia na čase pri použití proteínov a fosfolipidov pre FK(vľavo) a OK(vpravo).	50
obr. 5-4	Závislosť súčiniteľa trenia na čase pri použití proteínov, HA a fosfolipidov pre FK (vľavo) a OK (vpravo).	51
obr. 5-5	Vplyv koncentrácie pre mazivá obsahujúce iba proteíny (vľavo) a proteíny s pridaním HA (vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín, HA – HA.	51
obr. 5-6	Vplyv koncentrácie pre mazivá obsahujúce proteíny s pridaním fosfolipidov (vľavo) a proteíny s pridaním HA a fosfolipidov (vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín, HA – HA, PHs - fosfolipidy.	52
obr. 5-7	Vplyv rýchlosti pre mazivá obsahujúce proteíny pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín.	53
obr. 5-8	Vplyv rýchlosti pre mazivá obsahujúce proteíny a HA pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín, HA – HA.	54

obr. 5-9	Vplyv rýchlosti pre mazivá obsahujúce proteíny a fosfolipidy pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín, PHs - fosfolipidy.....	54
obr. 5-10	Vplyv rýchlosti pre mazivá obsahujúce proteíny a HA a fosfolipidy pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín, HA – HA, PHs - fosfolipidy...	55
obr. 5-11	Vplyv zaťaženia pre mazivá obsahujúce proteíny pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín.	56
obr. 5-12	Vplyv zaťaženia pre mazivá obsahujúce proteíny a HA pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín, HA – HA.	56
obr. 5-13	Vplyv zaťaženia pre mazivá obsahujúce proteíny a fosfolipidy pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín, PHs - fosfolipidy.....	57
obr. 5-14	Vplyv zaťaženia pre mazivá obsahujúce HA, fosfolipidy a proteíny pre FK(vľavo) a OK(vpravo). A -Albumín, γ -G – γ -globulín, HA – HA, PHs - fosfolipidy...	57
obr. 6-1	Opakovateľnosť maziva obsahujúceho albumín a γ -globulín. Namerané hodnoty(vľavo) a hodnoty vzťahnuté k počiatku(vpravo).	61
obr. 6-2	Opakovateľnosť γ -globulínu. Namerané hodnoty(vľavo) a hodnoty vzťahnuté k počiatku(vpravo).	61
obr. 6-3	Opakovateľnosť albumínu. Namerané hodnoty(vľavo) a hodnoty vzťahnuté k počiatku(vpravo).	62

11 ZOZNAM PRÍLOH

Príloha č.1

Článok: *The effect of synovial fluid constituents on frictional behaviour of joint cartilage.*